

**IX. DEGRADACIÓN POR ULTRASONIDOS DE
POLI(α -ALQUIL- β -L-ASPARTATO)S Y POLIGLUTAMATOS**

9.1. Introducción y antecedentes

La irradiación de ultrasonidos es un procedimiento que ha sido utilizado con frecuencia para escindir macromoléculas en solución (Basedow y Ebert, 1976; Price, 1990) y se ha aplicado a una gran variedad de polímeros tanto solubles en agua (Basedow y Ebert, 1978; Koda *et al.*, 1994) como insolubles (Wu *et al.*, 1977; Malhorta, 1982 y 1986). El interés del proceso reside en el hecho de que las escisiones no se producen al azar. La rotura ocurre preferentemente en la región cercana al punto medio de las cadenas, obteniéndose fracciones de polímero con distribuciones del tamaño molecular bastante definidas. Aunque muchos estudios realizados sobre la degradación de polímeros por ultrasonidos tienen como finalidad investigar el mecanismo responsable de la rotura de las cadenas, el rasgo más importante de este fenómeno es que constituye un método satisfactorio para reducir el peso molecular de los polímeros sin incrementar la polidispersidad.

Gyorgi (1933), a partir de estudios llevados a cabo sobre el almidón y otros productos naturales, fue el primero en establecer que la reducción de la viscosidad en las soluciones era debida a la rotura de las cadenas de polímero, si bien se desconocía la naturaleza de estas roturas. El hecho de que los ultrasonidos causan escisión en los enlaces se estableció de forma definitiva a partir de los trabajos de Brohult (1937), el cual comprobó que como resultado de la sonicación se obtenían fracciones monodispersas. Posteriormente, Schmid y Rommel (1939 y 1940), comprobaron que las soluciones de poliestireno, poliacrilatos y nitrocelulosa experimentaban una reducción permanente e irreversible de la viscosidad al ser expuestas a los ultrasonidos. Estos autores constataron que la disminución de la viscosidad era inicialmente un proceso rápido cuya velocidad disminuía con el tiempo hasta alcanzar un valor límite, por debajo del cual no se producía reducción. Estos dos efectos, la existencia de un grado de polimerización límite y una degradación más rápida para pesos moleculares elevados, han sido observados por diversos investigadores (Freundlich, 1937; Weissler, 1951; Mostafa, 1958; Basedow, 1977) y constituyen los rasgos más característicos de la degradación por ultrasonidos.

Las investigaciones realizadas hasta la fecha indican que los parámetros básicos que influyen en la degradación son de tres tipos: i) factores relativos a los ultrasonidos, ii) factores relativos al solvente o a la solución y iii) factores relativos al polímero.

i) Ultrasonidos

La frecuencia de la radiación ultrasónica y su intensidad influyen en la degradación debido a su efecto sobre el proceso de cavitación, es decir, la formación de burbujas en el seno de la solución por efecto de los ultrasonidos. No obstante, los trabajos teóricos llevados a cabo por Jellinek (1959) predicen que la constante de velocidad de degradación es independiente de la frecuencia para valores inferiores a 500 kHz. Schmid y Poppe (1949) ya habían comprobado experimentalmente esta idea trabajando en soluciones de poliestireno irradiadas a una intensidad constante de 1 w/cm^2 entre 10 y 300 kHz. Para frecuencias mayores Mostafa (1958) observó que al aumentar la frecuencia incrementaba la velocidad de degradación.

En relación con la intensidad, se comprueba que de forma general, tal y como es de esperar, la velocidad y extensión de la degradación aumenta al aumentar la intensidad.

ii) Disolución

Referente a los factores que conciernen a la solución, los resultados obtenidos por Schmid y Bettenmuller (1940) revelan que la degradación procede más lentamente y se alcanza un peso molecular límite superior a mayor temperatura. Parece ser que ello está relacionado con el proceso de cavitación. A temperaturas elevadas el solvente tiene una presión de vapor mayor. Ello significa, que el vapor puede penetrar en las burbujas de la cavitación amortiguando el colapso y reduciéndose de esta forma la degradación. Por otro lado, a bajas temperaturas, el aumento de la viscosidad proporciona mayor transferencia de energía desde el transductor o punzón del aparato a la solución, este hecho junto con la disminución de la movilidad de las cadenas de polímero, contribuye a una mayor degradación.

En relación con la influencia que ejerce la concentración de las soluciones, todos los estudios realizados hasta la fecha, indican que la velocidad de degradación es mayor a bajas concentraciones. Diversos autores (Gooberman y Lamb, 1960a y b; Jellinek y White, 1951) argumentan que la disminución de la velocidad de degradación al aumentar la concentración se debe a una reducción en la eficiencia de la cavitación al solaparse las cadenas de polímero.

iii) Polímero

Existen diversos estudios sobre la influencia de la naturaleza química del polímero en la degradación. Malhorta (1986), tras degradar una serie de poli(alquil metacrilato)s con cadenas laterales en un rango entre metilo y octilo, obtuvo resultados similares para todos los polímeros. Sin embargo, Thomas (1959) comprobó que el poli(lauril metacrilato) se degradaba aproximadamente 3,5 veces más rápido que el correspondiente derivado metílico. El trabajo sugiere que ello está relacionado con el diámetro de la cadena de polímero, mayor en el polímero de laurilo que en la cadena con el sustituyente metilo.

La influencia de la naturaleza de la cadena principal del polímero en la degradación ha sido investigada por Encina *et al.* (1980). Estos autores han comprobado que la poli(*N*-vinil pirrolidona) preparada con enlaces peróxido en una relación de 1:250 en la cadena, se degrada 10 veces más rápido y llega a un peso molecular límite menor que el homopolímero. En este trabajo, se calculó que las roturas en la cadena eran 500 veces más rápidas en los enlaces O-O que en los C-C. El polímero recuperado tras la sonicación presentó el peso molecular esperado en el caso que todas las uniones peróxido se hubieran escindido.

Con respecto a la influencia que la conformación del polímero en disolución ejerce sobre la degradación, ciertos autores (Zana *et al.*, 1962 y 1963) han comprobado que el efecto de los ultrasonidos sobre soluciones de polipéptidos depende de la conformación en la que se encuentren dichos polipéptidos. Parece ser que la degradación es mayor cuando estos se encuentran en la conformación ovillo estadístico.

En el presente capítulo se describe el estudio llevado a cabo sobre la degradación por ultrasonidos de una serie de poliamidas que se distinguen por tener un sustituyente en el átomo de carbono unido al NH, y contener una alta densidad de grupos amida en la cadena principal. Los polímeros estudiados son: i) el polipéptido poli(γ -bencil- α -L-glutamato) (PGBLG), ii) una serie de poli(α -alquil- β -L-aspartato)s (PAALA)s y iii) el poli(α -bencil- γ -L-glutamato) (PABLG). Estos polímeros pueden considerarse como derivados de los nylons 2, 3 y 4 respectivamente, y sus correspondientes fórmulas químicas se representan en la **Figura 9.1**. Todos los compuestos estudiados en este capítulo se listan en la **Tabla 9.1** junto con los resultados obtenidos en los ensayos de sonicación.

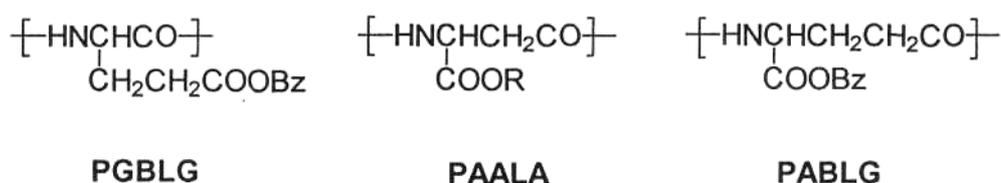


Figura 9.1. Fórmula química de la unidad repetitiva de los poliaspartatos y poliglutamatos estudiados.

El poli(γ -bencil- α -L-glutamato) es un polipéptido del cual se dispone de abundante información ya que ha sido estudiado desde diversos puntos de vista (Block, 1983). Por otro lado, los poli(β -L-aspartato)s (Fernández-Santín *et al.*, 1984) y los poli(γ -L-glutamato)s (Puiggali *et al.*, 1988) son poliamidas helicoidales directamente relacionadas con los polipéptidos. Los poli(β -L-aspartato)s, tal como se describe en los primeros capítulos de esta memoria, se sintetizan por polimerización aniónica por apertura del anillo de las β -lactamas. Las muestras de poli(γ -L-glutamato)s se preparan por biosíntesis bacteriana (Kubota *et al.*, 1992; Borbély *et al.*, 1994; Cromwick y Gross, 1995). Ambas familias de polímeros han suscitado recientemente mucho interés, la primera por las singulares propiedades eléctricas (Prieto *et al.*, 1989) y ópticas (Montserrat *et al.*, 1988) que exhibe y la segunda por su capacidad potencial como polímeros biodegradables de origen natural (Dobrowska, 1945).

Para las dos familias de polímeros, poli(β -L-aspartato)s y poli(γ -L-glutamato)s, es posible obtener polímeros de elevado peso molecular siendo usuales valores de cientos de miles. Los poli(γ -L-glutamato)s tienen pesos moleculares superiores al millón. Sin embargo, en ocasiones se desean muestras de pesos moleculares moderados debido a su mejor solubilidad o a su mayor facilidad de transformación. Considerando que químicamente no es factible escindir la cadena principal sin alterar los grupos alcóxicarbonilo laterales, la irradiación por ultrasonidos constituye un método apropiado para reducir el peso molecular de estas poliamidas.

El interés principal del presente estudio es evaluar la degradación por ultrasonidos de los poli(β -L-aspartato)s y los poli(γ -L-glutamato)s. Hasta la fecha, la degradación del polipéptido PGBLG no había sido nunca examinada comparativamente y en este sentido es interesante estudiar la influencia de la constitución de la cadena principal en relación con la velocidad de escisión de estas poliamidas sustituidas. Dado que la sensibilidad de los polímeros frente a la sonicación está afectada por la naturaleza de los sustituyentes, el estudio de los poli(β -L-aspartato)s se extiende a una serie de compuestos que difieren en el tamaño y la forma de la cadena lateral.

9.2. Experimental

Se trabajó a una frecuencia nominal de radiación de 20 kHz. Se utilizó un punzón transductor de diámetro 3 mm. Las soluciones de polímero se prepararon a las concentraciones de 3 o 5 mg/mL en cloroformo conteniendo una cantidad despreciable de ácido trifluoroacético (TFA). Para la sonicación, las soluciones de polímero se dispusieron en una celda Rosett de volumen 50 mL, refrigerada mediante un baño a una temperatura de 0°C. Tras la irradiación el polímero se precipitó por adición de tres volúmenes de metanol y se secó a vacío.

El PGBLG fue suministrado por Aldrich y se utilizó sin posterior purificación. El PABLG fue facilitado amablemente por el Dr. Kubota (Pharmaceutical Technology Laboratories, Meiji Seika Kaisha) y los PAALAs fueron sintetizados y completamente caracterizados en nuestro Laboratorio, según la metodología descrita en los primeros capítulos de esta memoria. Las medidas de viscosidad se llevaron a cabo a la temperatura de 25°C. Los pesos moleculares viscosimétricos fueron estimados aplicando la ecuación $[\eta]=2,78 \cdot 10^{-5} M_v^{0,87}$ descrita para el PGBLG (Doty *et al*, 1956).

9.3. Resultados y discusión

9.3.1. Características generales de la degradación

Los rasgos generales de la degradación por ultrasonidos de los poli(α -alquil- β -L-aspartato)s pueden analizarse con claridad considerando el caso del poli(α -*n*-propil- β -L-aspartato) (PAPLA). Tal como se muestra en la **Figura 9.2**, la viscosidad intrínseca de este polímero disminuye desde 6 dL/g hasta un valor próximo a 1 dL/g transcurrido un período de tratamiento de 1 hora, tras el cual no se observa posterior disminución. Esta caída de la viscosidad correspondería aproximadamente a una reducción del tamaño de cadena de aproximadamente ocho veces el valor inicial, alcanzando un peso molecular límite final cercano a 160.000.

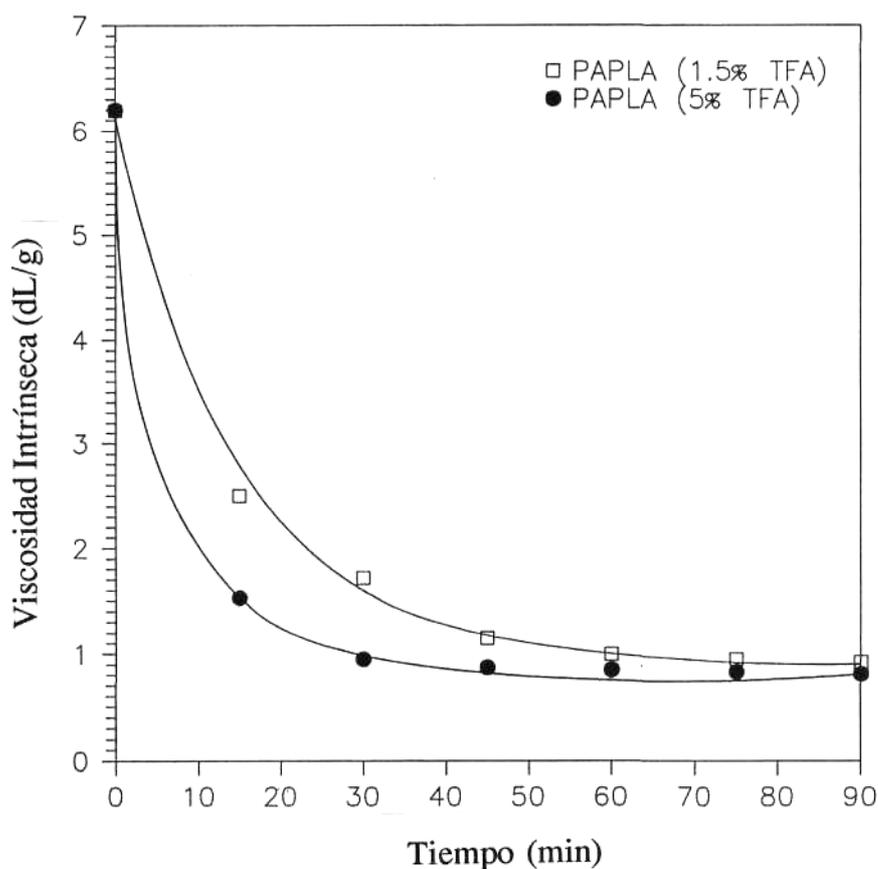


Figura 9.2. Degradación por ultrasonidos del poli(α -*n*-propil- β -L-aspartato)(PAPLA). Representación de la viscosidad intrínseca frente al tiempo de irradiación.

Está generalmente aceptado que la degradación de los polímeros en disolución es menos pronunciada cuando la cadena polimérica es más rígida y anisométrica. Tal y como se ha mostrado en los capítulos anteriores los poli(α -alquil- β -L-aspartato)s en soluciones clorofórmicas adoptan conformaciones helicoidales del tipo hélice α , las cuales cambian a la conformación en ovillo estadístico por adición de pequeñas cantidades de TFA. La **Figura 9.3a** muestra el espectro de RMN ^1H del PAPLA en cloroformo (TFA 1,5%), este consiste en señales anchas poco resueltas, rasgo característico de una conformación helicoidal estructurada. A una concentración de TFA del 5%, todas las señales presentes en el espectro aparecen bien definidas (**Figura 9.3b**), indicando que, bajo estas condiciones, la cadena polimérica está en un estado flexible de ovillo estadístico. La influencia que ejerce la conformación de la cadena sobre la degradación de PAPLA se refleja en la **Figura 9.2**, en donde se comparan las curvas y la viscosidad frente al tiempo de irradiación, a las concentraciones de 1,5% y 5% de TFA. A pesar de alcanzarse la misma viscosidad final en ambos casos, la velocidad de caída es significativamente menor cuando el polímero está en conformación helicoidal.

Aunque el estudio detallado del mecanismo de la escisión molecular no es el propósito de este estudio, diferentes técnicas han demostrado que la estructura química del polímero permanece esencialmente inalterada tras el tratamiento. El espectro de RMN ^1H del PAPLA tras dos horas de irradiación (**Figura 9.3c**) aparece prácticamente indistinguible del correspondiente a la muestra no tratada (**Figura 9.3b**). En él, tanto los desplazamientos químicos como la multiplicidad de las señales están de acuerdo con los que deben esperarse para la constitución del polímero. En particular, no se detectaron cambios en la relación de las áreas de las señales, indicando que las cadenas laterales no han sido eliminadas debido al tratamiento de irradiación. La comparación entre los espectros de RMN ^{13}C (no mostrado) del polímero inicial y degradado proporcionó un soporte adicional a estas conclusiones.

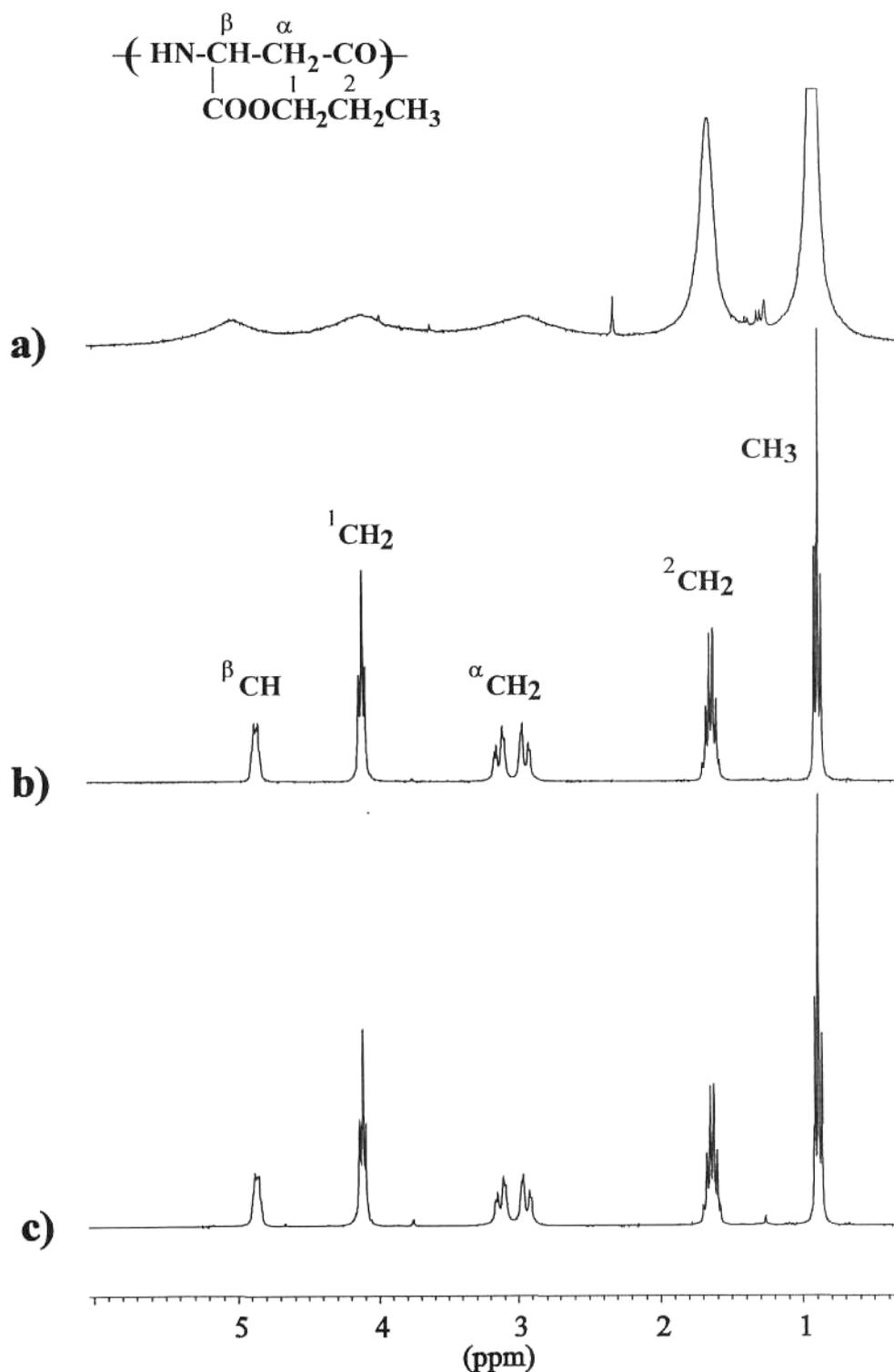


Figura 9.3. RMN ¹H a 300 MHz del PAPLA. Espectro de una muestra no irradiada registrado en (a) CDCl₃/TFA(1,5%), y en (b) CDCl₃/TFA(5%). (c) Espectro de una muestra irradiada durante dos horas y registrada como en (b).

Por otro lado, el PAPLA degradado cristaliza en una forma hexagonal bien ordenada la cual se sabe es la preferentemente adoptada por este polímero, tal y como se escribe en el capítulo VIII de esta memoria. Tal y como allí se determinó, la estructura de este polímero consiste en un empaquetamiento de hélices $13/4$ dextrorsas en una red pseudo-hexagonal con $a_o=12.82 \text{ \AA}$ y $c_o=21,38 \text{ \AA}$. En la Figura 9.4 se muestran los diagramas de fibra del PAPLA antes y después de la irradiación para ilustrar la estrecha similitud existente entre ellos. Este comportamiento puede considerarse un rasgo importante, ya que es sabido que la cristalización de los poli(α -alquil- β -L-aspartato)s se altera fácilmente por la presencia de defectos en la cadena. Finalmente, las medidas de rotación óptica realizadas en el polímero inicial y después de la irradiación, dieron el mismo valor para la rotación óptica específica ($[\alpha]_D^{25} = +88^\circ$, $c=1 \text{ g/100 mL}$ en TFA), revelando que durante la degradación no se produce racemización perceptible.

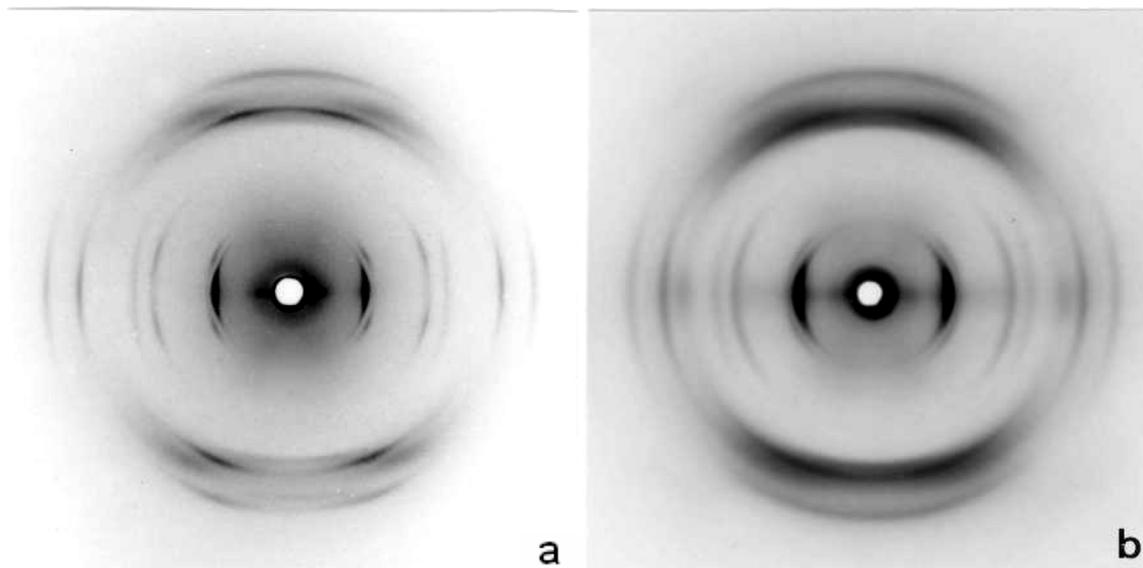


Figura 9.4. Diagramas de rayos X de fibra del PAPLA en la forma cristalina hexagonal antes, (a), y después, (b), de la degradación por ultrasonidos. En ambos diagramas el eje de la fibra es vertical.

9.3.2. Influencia de la estructura de la cadena principal

Diverso autores (Koda *et al.*, 1994; Encina *et al.*, 1980) han obtenido evidencias que demuestran que la velocidad de degradación está influenciada por la naturaleza química de la cadena polimérica. Con el fin de investigar este aspecto en las poliamidas aquí estudiadas, se irradiaron soluciones de los esteres bencílicos del ácido poli(α -L-glutámico) (PGBLG), del ácido poli(β -L-aspartico) (PABLA) y del ácido poli(γ -L-glutámico) (PABLG) bajo idénticas condiciones. En la **Figura 9.5** se representa la caída de la viscosidad intrínseca con el tiempo de irradiación para los tres sistemas estudiados. Se observa que aunque los tres polímeros alcanzan un valor similar para el peso molecular límite, la velocidad de degradación aumenta con la concentración de grupos amida en la cadena principal.

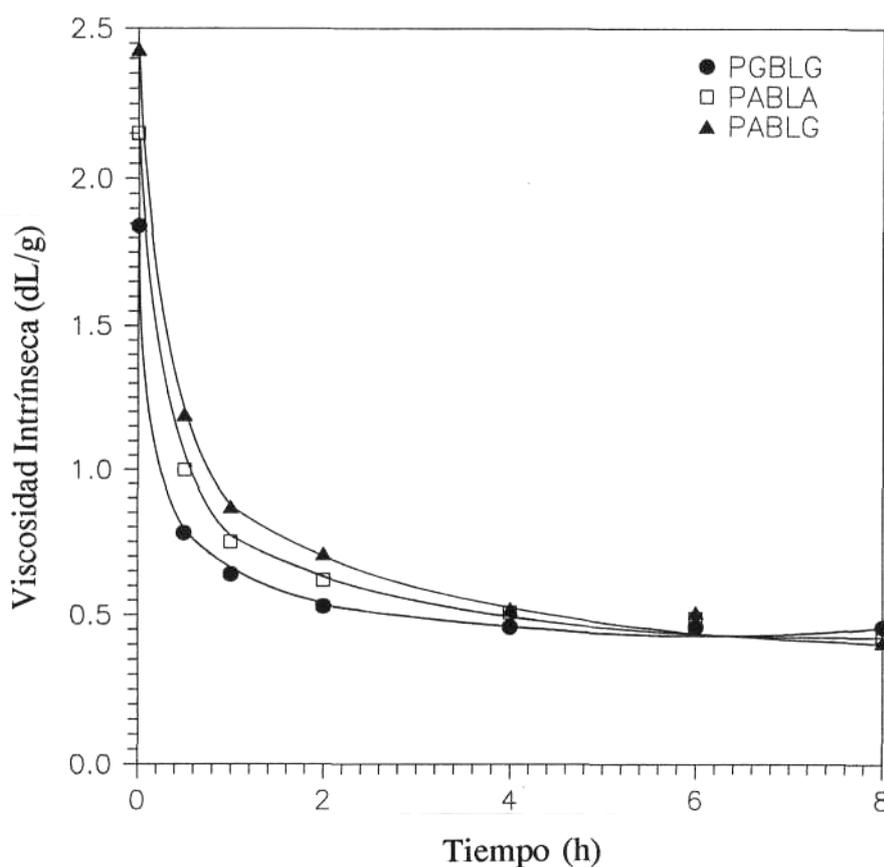


Figura 9.5. Efecto de la composición de la cadena principal en la degradación por ultrasonidos de PGBLG, PABLA y PABLG.

Utilizando para estas tres poliamidas, el modelo cinético simplificado propuesto por Ovenall *et al.* (1958) (**ecuación 9.1**), el cual es sabido que representa satisfactoriamente el proceso de rotura en las primeras etapas de la degradación (Price *et al.*, 1993)., es posible establecer una comparación aproximada de las velocidades de degradación de los tres polímeros. En la **ecuación 9.1** M_0 es el peso molecular de la unidad repetitiva y c la concentración de polímero en solución en g/mL.

$$\ln \left[\frac{1}{M_f} - \frac{1}{M_i} \right] = \ln \left[\frac{1}{M_f} - \frac{1}{M_i} \right] - k \left[\frac{M_f}{cM_0} \right] t \quad (9.1)$$

En la **Tabla 9.1** se listan los valores de las constantes de velocidad que resultan de dicho cálculo. De acuerdo con la descripción molecular generalmente aceptada sobre las escisiones de cadena causadas por los ultrasonidos (Doulah, 1978), la tendencia observada para k es perfectamente explicable en base a las estabilidades de los enlace C-C y C-N, cuyas energías de rotura son 347 y 305 kJ/mol, respectivamente.

Tabla 9.1. Constantes de velocidad de degradación y peso molecular límite viscosimétrico para poliamidas.

Polímero	Cadena principal	Cadena lateral	$[\eta]_i^{a)}$ (dL/g)	$10^{-5} \cdot M_i^{b)}$	$[\eta]_f^{a)}$ (dL/g)	$10^{-5} \cdot M_f^{b)}$	$10^{-5} \cdot k^{c)}$ (min ⁻¹)
PGBLG	-NH-CH-CO-	-CH ₂ -CH ₂ -COOBz	1,84	3,50	0,46	0,71	2,11
PABLA	-HN-CH-CH ₂ -CO-	-COOBz	2,15	4,15	0,51	0,79	1,47
PABLG	-HN-CH-CH ₂ -CH ₂ -CO-	-COOBz	2,43	4,80	0,52	0,81	1,08
PAPLA	-HN-CH-CH ₂ -CO-	-COOC ₃ H ₇	6,18	14,00	0,95	1,63	0,92
PAIALA	-HN-CH-CH ₂ -CO-	-COO <i>i</i> -C ₃ H ₁₁	4,93	10,80	0,76	1,26	2,26
PANPLA	-HN-CH-CH ₂ -CO-	-COO <i>neo</i> -C ₅ H ₁₁	3,20	6,57	0,99	1,70	0,56
PADLA	-HN-CH-CH ₂ -CO-	-COO- <i>n</i> -C ₁₂ H ₂₅	1,14	2,00	0,33	0,49	12,2

a) Viscosidades intrínsecas inicial $[\eta]_i$ y final $[\eta]_f$ medidas en ácido dicloroacético a 25 °C.

b) Pesos moleculares medios inicial M_i y final M_f estimados mediante la ecuación viscosimétrica del PGBLG (Doty *et al.*, 1958).

c) Constantes de velocidad de degradación calculadas mediante la **ecuación 9.1** (Ovenall *et al.*, 1958).

9.3.3. Influencia de la estructura de la cadena lateral

Existen antecedentes sobre estudios en los cuales se relaciona la velocidad de degradación del polímero inducida por ultrasonidos con el diámetro de la cadena polimérica, estimado considerando la cadena principal y el tamaño de la cadena lateral (Doulah, 1978). Así, tal como se cita en la introducción de este capítulo, el poli(lauril metacrilato) se degrada aproximadamente cuatro veces más rápido que el poli(metil metacrilato) en concordancia con el mayor diámetro del primero.

Con el fin de evaluar la influencia de la constitución de la cadena lateral en la degradación de los poli(α -alquil- β -L-aspartato)s, se irradió bajo condiciones similares un conjunto de PAALAs con grupos laterales que difieren en la longitud y en la forma del grupo alquilo lateral. En la **Figura 9.6** se comparan las curvas de degradación resultantes para los derivados *n*-propílico (PAPLA), *neo*-pentílico (PANPLA), *iso*-amílico (PAIALA) y *n*-dodecílico (PADLA). Las constantes de velocidad correspondientes y los pesos moleculares límite se recogen en la **Tabla 9.1**. Se comprueba que el derivado *n*-dodecílico se degrada más rápidamente que el derivado *n*-propílico, tal como corresponde al mayor diámetro de la cadena de polímero. Por otro lado, al comparar los derivados *neo*-pentílico e *iso*-amílico, se observa que la degradación ocurre más rápidamente para este último. Dado que la longitud del grupo lateral es aproximadamente la misma para los dos polímeros, las diferencias observadas en la velocidad de degradación deben relacionarse con la rigidez de la cadena. Aparentemente esta es mayor para el PANPLA debido a la constricción estérica que ejerce el grupo *neo*-pentilo, relativamente voluminoso.

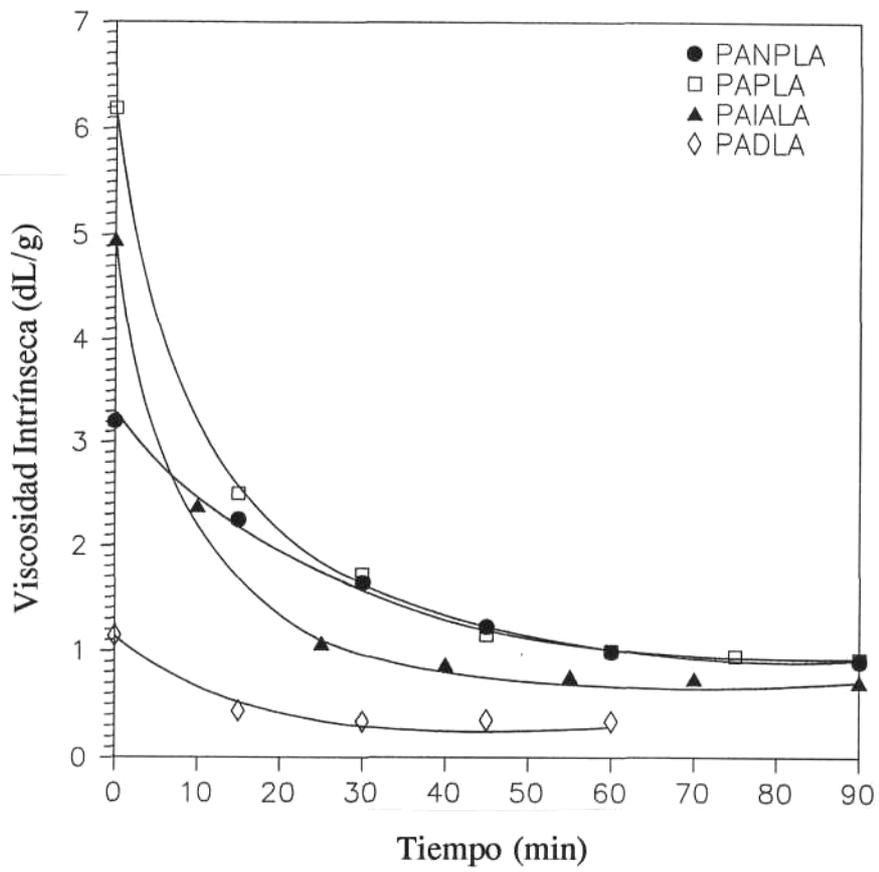


Figura 9.6. Efecto de la constitución de la cadena lateral en la degradación por ultrasonidos de los poli(α -alquil- β -L-aspartato)s.

9.4. Conclusiones

1. Los poli(aspartato)s y los poli(glutamato)s se degradan por ultrasonidos siguiendo el comportamiento general descrito para polímeros vinílicos y biopolímeros. Las escisiones se producen exclusivamente en la cadena principal. Siendo los enlace C-N relativamente más débiles las roturas ocurren en ellos preferentemente y por tanto la velocidad de degradación aumenta con la concentración de grupos amida en el polímero.
2. Mientras que el peso molecular límite no depende de la estructura química del polímero, la velocidad de degradación se afecta significativamente por el tamaño y la forma de la cadena lateral. Concretamente, las cadenas laterales alquílicas lineales largas aceleran el proceso de rotura y las cadenas voluminosas que aumentan la rigidez molecular, la desaceleran.
3. La presencia de compuestos que dificultan el establecimiento de puentes de hidrógeno, también afecta a la degradación. Cuando la concentración de dichos compuestos aumenta la degradación se hace más efectiva. Se ha comprobado que la velocidad de degradación es mayor en conformación ovillo que en conformación helicoidal.