

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA
Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros

TESIS

Síntesis de un monómero soportando una alcoxiamina como sitio iniciante (inimer) para la preparación de copolímeros en peine mediante copolimerizaciones duales por adición, fragmentación y transferencia reversible y mediada por nitróxidos

Presentada por:

EVANIVALDO CORREA VÁZQUEZ


Para obtener el grado de:

Maestro en Tecnología de Polímeros

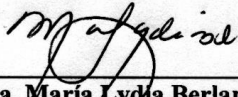
Asesorado por:

Dr. Ramiro Guerrero Santos


SINODALES



Dr. Enrique Jiménez Regalado
Presidente



Dra. María Lydia Berlanga Duarte
Secretario



M.C. Gladys de los Santos Villarreal
Vocal

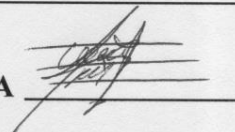
Saltillo, Coahuila

Diciembre, 2014

TESIS CON CARACTER ABIERTO

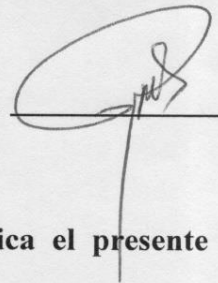
PROGRAMA: MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE POLÍMEROS

AUTOR: EVANIVALDO CORREA VÁZQUEZ FIRMA



TITULO: Síntesis de un monómero soportando una alcoxiamina como sitio iniciante (inimer) para la preparación de copolímeros en peine mediante copolimerizaciones duales por adición, fragmentación y transferencia reversible y mediada por nitróxidos.

ASESOR: Dr. Ramiro Guerrero Santos FIRMA




El Centro de Investigación en Química Aplicada clasifica el presente documento de tesis como ABIERTO.

Un documento clasificado como Abierto se expone en los estantes del Centro de Información para su consulta. Dicho documento no puede ser copiado en ninguna modalidad sin autorización por escrito del Titular del Centro de Información o del Director General del CIQA.

Saltillo, Coahuila, a 16 de Diciembre de 2014


Sello de la Institución


Dr. Oliverio Santiago Rodríguez Fernández
Director General del CIQA

Contenido	
Índice de figuras	5
Resumen	7
Capítulo 1 Antecedentes	9
1.1 Polimerización Radicálca Controlada (CRP)	9
1.1.1 Polimerización Radicálca Mediada por Nitróxidos (NMP).....	10
1.1.2 Polimerización Radicálca por Transferencia de Cadena Adición-Fragmentación RAFT.....	13
1.1.3 Sistemas Duales para Polimerización Radicálca Controlada (CRP)	15
1.2 Aplicaciones Potenciales.....	21
1.2.1 Liberación controlada de fármacos	21
1.2.2 Nanomedicina	21
1.2.3 Ingeniería de Tejidos.....	22
1.2.3.1 Electrohilado	24
Capítulo 2. Metodología experimental	27
2.1 Tratamiento de reactivos, monómeros y solventes.	27
2.2 Caracterización	28
2.2.1 Cromatografía por exclusión de tamaños (SEC)	28
2.2.2 Resonancia magnética nuclear (RMN)	28
2.3 Síntesis	28
2.3.1 Síntesis del 2,2,6,6-tetrametil-1-(2-bromo-1-feniletoksi) piperidina (TMBF).....	28
2.3.2 Síntesis de etil acrilato de 2-fenil,2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloksi) (EAFT)30	
2.3.3 Copolimerizaciones.....	31
Capítulo 3. Resultados y Discusiones	39
3.1 Etil acrilato de 2-fenil 2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloksi) (EAFT).....	39
3.2 Copolimerización Etil acrilato de 2-fenil 2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloksi) (EAFT)	43
3.3 Extensión Vía RAFT.....	51
3.4 Copolimerización NMP	58
Capítulo 4 Conclusiones y Perspectivas	63
Glosario	65
Referencias	66

Índice de figuras

Figura 1 Etil acrilato de 2-fenil 2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) (EAFT)	7
Figura 2 Mecanismo de polimerización del estireno vía NMP en presencia de TEMPO	11
Figura 3 Mecanismo de formación de cadenas en la polimerización RAFT	14
Figura 4 Maleimida Inimer	17
Figura 5 Estructura del ATRP-Inimer BIEA	17
Figura 6 Estructura de la 2,2,6,6-tetrametil-1-(1'-feniletoksi)-4-(4'-vinilbenziloxi-piperidina).....	18
Figura 7 Estructura del 2-(metacriloxi)etil 4-ciano-4-(fenilcarbonotioiltio) pentanoato MCFP	18
Figura 8 Estructura del N,N dietilaminocarbamoilmetilestireno (DTCS).	19
Figura 9 Estructura del 2-(metacriloxi) etil m4-ciano-4-(fenilcarbonotioiltio) pentanoato.	20
Figura 10 Esquema no proporcional de la estructura de un proteoglicano.....	23
Figura 11 Representación del proceso de electrohilado.....	25
Figura 12 Formación del 2,2,6,6-tetrametil-1-(2-bromo-1-feniletoksi) piperidina (TMBF)	29
Figura 13 Formación del etil acrilato de 2-fenil,2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) (EAFT).....	30
Figura 14 Copolimerización estireno y EAFT llevada a cabo en masa, a 65°C durante 8h	32
Figura 15 Extensión de PSI con n-butilacrilato mediante polimerización RAFT, solvente dioxano, 65°C, 4h.....	33
Figura 16 Copolimerización del n-butilacrilato y EAFT, en masa a 65°C, 1h.....	35
Figura 17 Extensión de PBAI con n-isopropilacrilamida (nipam) mediante polimerización RAFT, solvente dioxano, 4.5 h.....	36
Figura 18 Copolimerización de injerto de estireno empleando PBAI como macroiniciador NMP	37
Figura 19 Esquema de la formación del TMBF	39
Figura 20 Espectro RMN ¹ H del 2,2,6,6-tetrametil-1-(2-bromo-1-feniletoksi) piperidina (TMBF)	39
Figura 21 Formación de Etil acrilato de 2-fenil 2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) (EAFT).....	40
Figura 22 Espectro RMN ¹ H del Etil acrilato de 2-fenil 2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) (EAFT)	41
Figura 23 Espectro RMN ¹³ C del Etil acrilato de 2-fenil 2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) (EAFT)	42
Figura 24 Cromatograma PEGI	44
Figura 25 Espectro RMN ¹ H PEGI.....	44
Figura 26 Cromatograma de extensión RAFT PEGAI-b-PBA	46
Figura 27 Espectro RMN ¹ H "PPEGA-EAFT"-b-PBA.....	46
Figura 28 Copolimerización estireno y EAFT llevada a cabo en masa, a 65°C durante 8h	47
Figura 29 Estructura del Bis Tritiocarbonato de (2,2' dimetil-2" ácido acético) BTDA .	47
Figura 30 Cromatograma del copolímero PS-r-EAFT.....	48
Figura 31 Comparación de cromatogramas post tratamiento PPh ₃ +AIBN+THF	49

Figura 32 Comparación de espectros RMN ¹ H EAFT vs PS-r-EAFT	50
Figura 33 Estructura PS-r-EAFT	51
Figura 34 Comparación de cromatogramas PS-r-EAFT vs (PS-r-EAFT)-b-PBA-b-(PS-r-EAFT) con IR en naranja y UV en verde	51
Figura 35 Espectro RMN ¹ H (PS-r-EAFT)-b-PBA-(PS-r-EAFT).....	52
Figura 36 Estructura del copolímero PS-r-EAFT-b-PBA-b-PS-r-EAFT	53
Figura 37 Cromatograma PBA-r-EAFT (PBAI)	54
Figura 38 Espectro RMN ¹ H del copolímero PBA-r-EAFT	54
Figura 39 Espectro RMN ¹ H del copolímero PBA-r-EAFT-b-PNIPAM-b-PBA-r-EAFT	56
Figura 40 Estructura del copolímero (PBA-r-EAFT)-b-PNIPAM-b-(PBA-r-EAFT).....	56
Figura 41 Comparación de cromatogramas PBA-r-EAFT en naranja vs PBA-r-EAFT-b-PNIPAM-b-PBA-r-EAFT en azul.	57
Figura 42 Espectro RMN ¹ H del copolímero (PBA-r-EAFT-b-PS-PBA-r-EAFT)-g-PS 125 °C	58
Figura 43 Cromatograma de copolímero (PBA-r-EAFT-b-(PS-)b-PBA-rEAFT)-g-PS por activación de alcoxiamina a 125 °C.....	59
Figura 44 Comparación de cromatogramas PBAI vs PBAI-g-PS	60
Figura 45 Extensión vía NMP de PBAI-g-PS.....	61
Figura 46 Comparación de cromatogramas de uso de Macroagente dual RAFT/NMP	61

Resumen

En este trabajo se reporta la síntesis de copolímeros aleatorios mediante polimerización por adición, fragmentación y transferencia reversible (RAFT, por sus siglas en inglés) derivados del etil acrilato de 2-fenil,2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) (EAFT) -una alcoxiamina polimerizable- (ver Figura 1).

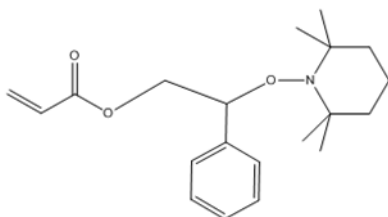


Figura 1 Etil acrilato de 2-fenil 2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) (EAFT)

El EAFT fue copolimerizado con monómeros vinílicos (*como* estireno) para obtener polímeros lineales de peso molecular controlado. Estos copolímeros resultaron ser, de hecho, compuestos multi-heterofuncionales capaces de operar vía RAFT en reacciones de extensión de cadena para formar copolímeros en bloques a bajas temperaturas, o de iniciar una polimerización mediada por nitróxidos (NMP, por sus siglas en inglés) a altas temperaturas ($T > 120\text{ }^{\circ}\text{C}$) para formar polímeros en forma de peine.

El EAFT fue utilizado para confeccionar injertos desde una cadena principal. Esto, aprovechando la estabilidad térmica que suministra a la molécula el enlace C-O de la alcoxiamina, el cual no se activa durante las polimerizaciones RAFT sino hasta alcanzar temperaturas mínimas de $120\text{ }^{\circ}\text{C}$. La polimerización RAFT se realiza a una temperatura de $60\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Primeramente, el EAFT fue copolimerizado utilizando el tritricarbonato bis α,α' -dimetil- α'' -ácido (BTDA) y como iniciador el 2,2'-azobis(isobutironitrilo) (AIBN) a temperaturas del orden de $60\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los comonómeros de EAFT empleados para la conducción de esta polimerización fueron el estireno, butilacrilato, N-isopropilacrilamida, entre otros. Como resultado de esta primera etapa se obtuvo un macroagente dual.

RAFT/NMP, el cual es una herramienta altamente útil y versátil que nos permitió

realizar extensiones de cadena para formar copolímeros aleatorios o en bloques. Al tiempo que la alcoxiamina se mantenía intacta para poder realizar injertos vía *grafting-from* y generar moléculas de arquitectura compleja *a posteriori*. Es decir, el agente dual puede actuar a través de activación térmica y generar una copolimerización *tándem*, RAFT/NMP.

El EAFT fue diseñado para preparar estructuras poliméricas con arquitectura de “peine”, buscando que estas formas puedan ser aplicadas en campos como la nanomedicina o la medicina regenerativa, entre otros.

Capítulo 1 Antecedentes

1.1 Polimerización Radicálica Controlada (CRP)

El descubrimiento de la polimerización aniónica viviente en los años 50's tuvo un gran impacto en la ciencia de los polímeros. Su trabajo facilitó el desarrollo de la química de polímeros sintéticos así como el de la física de polímeros. Su innovación es, ahora considerada como uno de los fundamentos de la nanotecnología moderna.¹ La base de este descubrimiento la constituye la eliminación de las *reacciones de terminación y transferencia*. Desde su descubrimiento y por más de una década la polimerización aniónica fue la única técnica de polimerización viviente.

Sin embargo, en los años posteriores se desarrollaron otras técnicas vivientes conocidas como *polimerización radicálica controlada/viviente*. Con esta nueva herramienta se pudieron desarrollar un sin número de nuevos materiales, —principalmente, copolímeros en bloques— que aprovechan las débiles interacciones intramoleculares a lo largo de la cadena de polímero para formar materiales nanoestructurados, proporcionando a los polímeros dimensiones uniformes, topología, composición y funcionalidad.¹

Ciertamente, la base de esta tecnología fue la polimerización radicálica convencional (PRC) que era ya conocida desde hace ya más de 6 décadas y que fue renovada solo a inicios de los años 1990, —basada/inspirada en la polimerización aniónica. La PRC presenta cuatro etapas elementales para la formación de cadenas, las cuales son idénticas a las de las nuevas versiones ahora conocidas como las Polimerizaciones Radicálicas Controladas (CRP) o Polimerizaciones Radicálicas por Desactivación Reversible (RDRP) como también son conocidas. Las etapas son: iniciación, propagación, terminación y transferencia.²

De hecho, la base de la RDRP es que, la reacción de terminación es también reversible. Por ello, muchos autores siguen llamando a las PRDR polimerizaciones radicálicas vivientes/controladas. Se dice, con razón, que en la RDRP solo puede producirse una disminución de la reacción de terminación pero

no su eliminación total.

Para dejarlo claro, el campo de la polimerización radicalica fue revitalizado en los 90 debido a que se encontró la posibilidad de lograr el control sobre el desarrollo del peso molecular y la funcionalización de las cadenas.³ Las técnicas RDRP abrieron nuevas vías para el desarrollo de materiales novedosos basados en un amplio rango de monómeros. En este trabajo empleamos la RDRP para preparar nuevos materiales, pero ahora con una nueva variante; la combinación de dos de las principales técnicas.

Dentro de la síntesis vía RDRP se incluyen, las tres técnicas que han recibido mayor atención en los últimos años; las cuales son: polimerización radicalica por transferencia de átomo (ATRP)⁴, polimerización mediada por nitroxidos (NMP)⁵ y la polimerización radicalica por transferencia de cadena por adición-fragmentación (RAFT)⁶.

1.1.1 Polimerización Radicalica Mediada por Nitroxidos (NMP)

La polimerización mediada por nitroxidos (NMP) es una técnica de polimerización que permite el diseño de estructuras definidas, funcionales y de arquitectura compleja⁵. El desarrollo de NMP tuvo sus orígenes en Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization (CSIRO) en estudios de mecanismos de iniciación. Antes del desarrollo de NMP los nitroxidos eran bien conocidos como purificadores radicalicos y varios derivados fueron usados ampliamente en estabilización de polímeros.⁷

A mediados de los ochenta se describía el uso de alcoxiaminas y nitroxidos como ruta para el control del crecimiento en una polimerización radicalica dentro de un amplio intervalo de monómeros, entre los que se incluyen acrilatos, metacrilatos, estirénicos y vinilacetatos⁸, sin embargo, no fue sino hasta principios de los 90 cuando se registró en la literatura científica abierta datos de resinas con pesos moleculares estrechos⁹ usando nitroxidos (2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi TEMPO).

Desde su introducción a principios de los 90 la polimerización mediada por nitroxidos ha sido empleada para la preparación de una amplia gama de nuevas arquitecturas de polímeros¹⁰.

En el mecanismo general de NMP un paso determinante es la ruptura térmica reversible del enlace C-O de una alcoxiamina polimérica para generar el correspondiente macrorradical polimérico y un radical estable de tipo nitroxido. La incorporación del monómero con la subsecuente recaptura del nitroxido conduce a la extensión de cadena polimérica.

Este proceso está regido por el efecto del radical persistente, dicho efecto es un principio general que explica el acoplamiento cruzado altamente selectivo originado entre un radical R1 y un radical R2, cuando uno de ellos es persistente (el nitroxido) y el otro transiente (el radical polimérico) y los dos radicales son formados a la misma velocidad, lo cual ocurre en NMP por la homólisis térmica del enlace C-O.¹¹

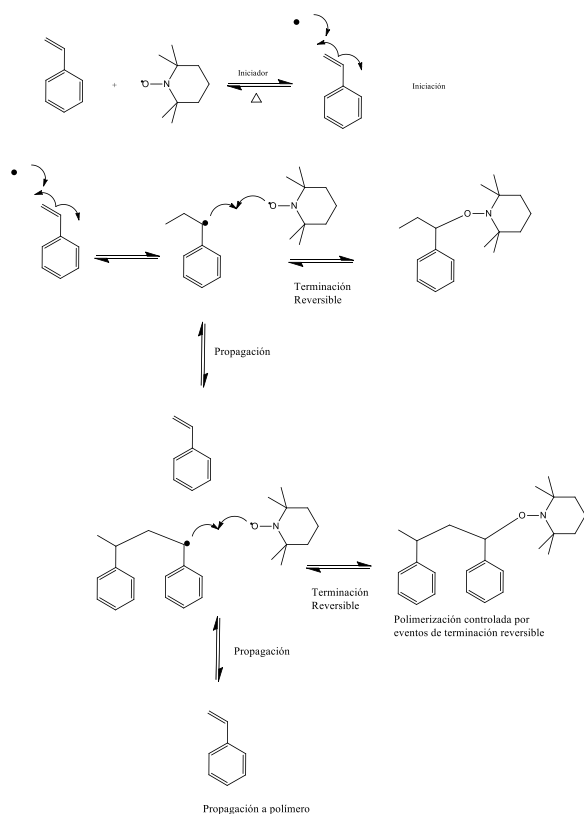


Figura 2 Mecanismo de polimerización del estireno vía NMP en presencia de TEMPO

Los monómeros que muestran mayor control en la polimerización radicalica mediada por nitroxidos, son sin lugar a dudas el estireno y sus derivados. Estos monómeros han sido estudiados ampliamente en términos de mecanismo, cinética y potenciales reacciones colaterales.⁵

Se han probado un amplio número de nitroxidos estables y parecen ser bastante

eficientes para lograr poliestirenos bien definidos, con buen control sobre las masas molares. Con casi la mayoría de los nitroxidos cíclicos la polimerización requiere de temperaturas por encima de los 100 °C. Esta característica puede ser mejorada con el uso de nitroxidos acíclicos como el nitroxido de ditertbutilo (DBNO) entre otros.⁵

Además, otros monómeros que también han sido estudiados exhaustivamente en la polimerización radicalica mediada por nitroxidos es la 4-vinilpiridina (4VP), 2-vinilpiridina (2VP).

La mediación por nitroxidos condujo a un buen control sobre una arquitectura bien definida como pueden ser los bloques anfílicos o copolímeros de injerto, pudiendo presentarse propiedades de autoensamblaje.⁵

Ventajas y Limitaciones

La polimerización vía nitroxidos presenta ventajas sobre otras técnicas como ATRP o RAFT. No se requieren haluros o aditivos que faciliten la polimerización mediada por nitroxidos no utiliza compuestos de azufre (que muchas veces resultan en el desprendimiento de olores desagradables). Una ventaja adicional del uso de nitroxidos sobre ATRP o RAFT es la capacidad de controlar la polimerización de monómeros dieno-conjugados como el isopreno y en algunos casos el 1-3 butadieno.¹⁰

La polimerización vía NMP puede ser combinada con la polimerización vía RAFT lo que otorga una gran oportunidad para generar nuevas estructuras poliméricas, como veremos en las siguientes secciones.

1.1.2 Polimerización Radicálica por Transferencia de Cadena Adición-Fragmentación RAFT.

La polimerización RAFT se reportó en 1998 como una nueva polimerización radicálica viviente de versatilidad y efectividad excepcional.¹²

La técnica RAFT no ha ganado la popularidad alcanzada por la técnica ATRP que también supera a la polimerización mediada por nitroxidos.^{6,13} Por citar un ejemplo, durante el periodo 1999-2012 las publicaciones en el área de polimerización radicálica por desactivación reversible en su mayoría fueron dedicadas a procesos de polimerización vía ATRP. Durante 2012 se tuvieron alrededor de 50% más publicaciones de ATRP que de RAFT.⁶

Sin embargo desde 2009 la importancia del proceso RAFT se ha incrementado considerablemente como atestigua el incremento de artículos relacionados en ese periodo, en el que se pueden encontrar desde el diseño y síntesis de agentes RAFT hasta aplicaciones diversas en síntesis de polímeros de arquitectura compleja y aplicaciones en la industria cosmética.⁶ Adicionalmente, los inventores de la polimerización RAFT estuvieron nominados al premio Nobel en 2014.^A

Las ventajas de la técnica RAFT se pueden resumir en tres puntos:

- I. El proceso RAFT tiene una configuración idéntica a la polimerización radicálica convencional, en el cual un agente de transferencia de cadena convencional es sustituido por un agente RAFT. Así sólo el monómero, el agente RAFT y el iniciador necesitan ser mezclados y privados de oxígeno (la presencia de oxígeno provocaría una inhibición inicial).¹³
- II. El proceso RAFT por sí mismo no induce efectos de retardo inherentes¹³. Sin embargo, hay un debate en torno a la cinética de este proceso, ya que los agentes RAFT basados en ditiobenczoatos presentan un mecanismo de retardo muy notorio.⁶
- III. La mayoría de los monómeros pueden ser polimerizados con dos tipos de agentes RAFT. Si la polimerización se limita a solventes orgánicos, podemos encontrar que

^A <http://www.businessinsider.com/who-will-win-the-nobel-prize-for-chemistry-2014-9>

el uso de cianoisopropilditiobenzoatos (CPDB) puede controlar adecuadamente las tres familias de monómeros más importantes estirénicos, acrilatos y metacrilatos.¹³

Mecanismo de polimerización RAFT

La primera etapa de la polimerización RAFT es la iniciación, en la que se crea un radical mediante la descomposición de un iniciador térmico. Tal iniciación puede ser también realizada utilizando otras fuentes como: la iniciación térmica de monómeros como el estireno, irradiación de luz UV, irradiación gama, irradiación por pulsos laser, etc. (El mecanismo generalmente aceptado para la polimerización vía RAFT se muestra en la Figura 3)

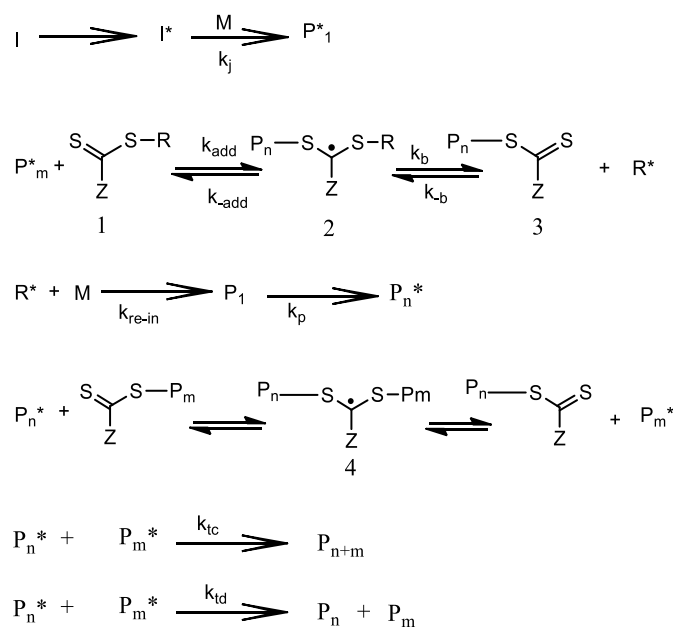


Figura 3 Mecanismo de formación de cadenas en la polimerización RAFT

Los radicales generados en la primera etapa reaccionan con el agente RAFT para dar inicio a la etapa dos. Se tiene evidencia de que todos los agentes RAFT son consumidos en esta etapa antes de continuar con la propagación. Esto se debe a la alta reactividad del enlace C=S del agente RAFT frente a los radicales en propagación, lo que indica que dicha adición se ve favorecida con respecto a la adición sobre el doble enlace del monómero. El radical intermediario puede

fragmentarse y volver al agente RAFT original y un radical oligomérico o alternativamente, el fragmento puede producir un agente RAFT oligomérico y un radical R^* reiniciante. La estructura de R^* debe ser tal que sea un buen grupo reiniciante.

En la etapa tres la cadena de polímero crece por la incorporación del monómero, y rápidamente hay un intercambio entre los radicales en crecimiento existente y las especies funcionalizadas con el grupo tiocarboniltio (etapa cuatro).

El rápido intercambio en la etapa de transferencia de cadena asegura que la concentración de cadenas radicáticas en crecimiento sea más baja que la cantidad de radicales intermedios estabilizados, por lo tanto, se limitan las reacciones de terminación, a pesar de esto las reacciones de terminación (desactivación) pueden ocurrir por mecanismos de combinación o desproporción.

La versatilidad de la técnica RAFT permite que sea empleada en el desarrollo de aplicaciones de alta especialidad, y si además se combina con la técnica NMP nos presenta la oportunidad de obtener una gran herramienta que suele denominarse como sistemas duales, los cuales repasaremos en la siguiente sección 1.1.3.

1.1.3 Sistemas Duales para Polimerización Radicálica Controlada (CRP)

Actualmente las técnicas de polimerización controlada permiten obtener polímeros de arquitectura compleja. Una nueva tendencia es el uso de sistemas duales para incrementar las posibilidades en diseño de arquitecturas.

Los *Iniferter* son una subclase de esos compuestos. Es decir, son moléculas que actúan simultáneamente como iniciadores, agentes de transferencia y agentes de terminación. Otsu¹⁴ demostró en los años 80s, que los *iniferters* derivados de ditiocarbamatos son efectivos iniciadores de la polimerización radicálica y tienen una importante participación en reacciones de terminación primaria y transferencia al iniciador.

Dado que la terminación bimolecular y otras reacciones de transferencia son inevitables, estas polimerizaciones dan como resultado polímeros en los que las moléculas de monómero se insertan en el enlace central del iniferter, conduciendo a polímeros con dos fragmentos de iniferter terminales en la cadena polimérica.¹⁴

La diferencia principal entre los iniferter y los agentes duales, tratados en este

documento, es que los primeros son compuestos en los que no se puede diferenciar en tiempo de actuación de las tres diferentes formas. Los agentes duales son, por el contrario, moléculas multi-heterofuncionales cuyo efecto puede ser separado por temperatura o por el uso de condiciones de reacción distintas. Por ejemplo, un agente dual RAFT/NMP puede ser activado para ser usado únicamente por RAFT sin interferencia del proceso NMP.

Monómero con sitio iniciante (Inimer)

Desde la publicación de Georges⁹ sobre la obtención de polímeros con estrecho índice de dispersidad se ha intentado aprovechar el uso de una alcoxiamina derivada del TEMPO como lo reportó Fréchet¹⁵ al convertirla en monómero vinílico polimerizable.

Este tipo de monómero vinílico que presenta un sitio termolábil es denominado *Inimer*. La terminación *mer* corresponde a la parte de monómero y la parte *ini* corresponde a la parte del iniciador.¹⁶

Se ha reportado el uso de inimers de este tipo para la síntesis de nanomateriales poliméricos con arquitectura de varilla,¹⁷ entre otros diseños. Además, se han reportado monómeros sustituidos con fragmentos tiocarbonilto polimerizables vía RAFT para la construcción de polímeros altamente ramificados¹⁸, sistemas que la literatura trata como inimers. Sin embargo, como se expuso al inicio de esta sección, un inimer debe poseer una parte de monómero y un sitio iniciante, es por ello que en este trabajo nos referimos a estas especies como ***fermers***, es decir, una molécula que puede actuar como agente de transferencia y como monómero.

Otra opción para los inimers son las polimerizaciones vía ATRP que también son empleados para elaborar copolímeros hiper-ramificados¹⁹, y de geles termosensibles.²⁰ Por ejemplo, en el trabajo reportado por Qiang¹⁶ se utiliza una maleimida-inimer, la N-(4- α -bromobutiriloxifenil) maleimida (BBPMI):

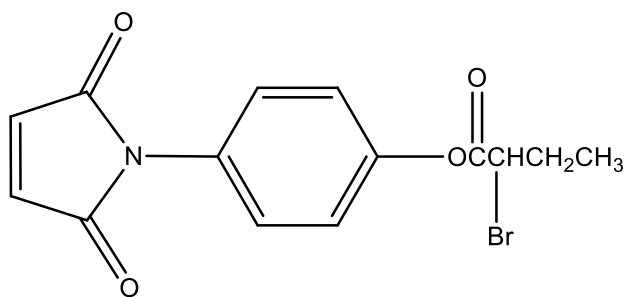


Figura 4 Maleimida Inimer

Las aplicaciones que este grupo buscó para este inimer fue como compatibilizantes para mezclas binarias ya que los polímeros hiper-ramificados deben ser térmicamente estables para mezclarse con plásticos de ingeniería a altas temperaturas de procesado. Para lograr la estabilidad térmica las unidades de maleimida fueron incorporadas a la cadena principal.

Otro ejemplo de ATRP-Inimer es el presentado por Zhang¹⁹ el 2-(2-bromoisobutiloxi) etil acrilato (BIEA):

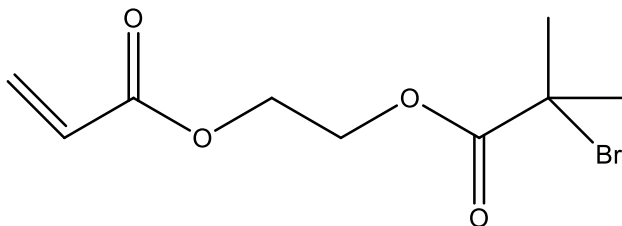


Figura 5 Estructura del ATRP-Inimer BIEA

Este trabajo toma como marco la investigación de poliolefinas (polietileno) a las que se pretende incorporar grupos funcionales para mejorar las propiedades de barrera, de superficie y miscibilidad como una alternativa a los procedimientos de polimerización por coordinación.

Por lo anterior se busca combinar técnicas de polimerización controlada vivientes; en este caso el BIEA copolimerizó con etileno lo que dio como resultado la formación de macroiniciadores polifuncionales capaces de reaccionar vía ATRP para la síntesis de estructuras núcleo-coraza funcionalizadas, por lo que se dejó abierta una puerta para la subsecuente modificación de estas estructuras.

Por otro lado se ha reportado también la síntesis de alcoxiaminas polimerizables (NMPInimer):²⁰

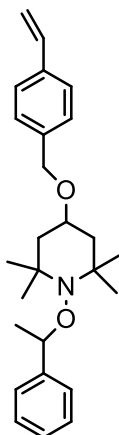


Figura 6 Estructura de la 2,2,6,6-tetrametil-1-(1'-feniletoxi)-4-(4'-vinilbenziloxi)-piperidina

En la alcoxiamina mostrada en la figura 6 podemos ver la presencia de un grupo vinil y un grupo nitróxido que permite actuar como iniciador a temperaturas mayores a 120 °C, esta alcoxiamina fue utilizada como agente de entrecruzamiento en la copolimerización de estireno y divinil benceno²⁰.

En los dos ejemplos anteriores se muestran estructuras que corresponden a un inimer con capacidad para iniciar ya sea por ATRP o NMP, sin embargo, también se han preparado monómeros con agentes RAFT, los cuales no nos atrevemos a denominarlos como inimers ya que en su estructura presentan un sitio de transferencia y no necesariamente un sitio iniciante, el cual es requisito para la denominación inimer.¹⁴

A continuación se mencionan algunos de estos ejemplos, los cuales podrían ser denominados *fermers* si nos basamos en la nomenclatura consultada.

Weí¹⁸ reportó en 2011 el siguiente *fermer* (Figura 7):

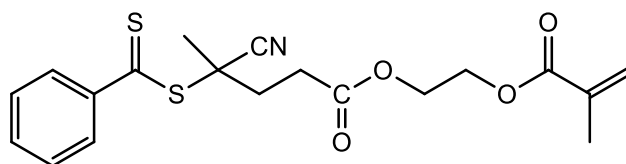


Figura 7 Estructura del 2-(metacriloxi)etil 4-ciano-4-(fenilcarbonotioiltio) pentanoato MCFP

El *fermer* 2-(metacriloxi)etil 4-ciano-4-(fenilcarbonotioiltio) pentanoato (MCFP),

mostrado en la Figura 7, fue utilizado para la síntesis de polímeros hiper-ramificados de estireno como una alternativa a las técnicas empleadas para la síntesis de polímeros dendríticos, cuya terminología proviene del término griego *dendra* que significa árbol,²¹ ya que la síntesis de dendrímeros suele requerir varias etapas y purificación entre los distintos pasos y al emplear el MCFP la síntesis de este tipo de estructuras puede realizarse en un solo paso sin necesidad de realizar etapas de purificación lo que representa una gran ventaja¹⁸.

Por otro lado también se han reportado Inimers capaces de reaccionar por efecto de la luz UV. Por ejemplo, Ishizu²² reportó en 2001 una copolimerización entre anhídrido maleico y el N,N-dietilaminocarbamoilmetilestireno (inimer:DTCS) mostrado en la Figura 8.

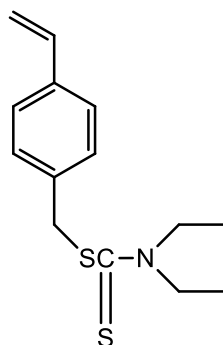


Figura 8 Estructura del N,N dietilaminocarbamoilmetilestireno (DTCS).

Con este inimer (DTCS) se obtuvieron estructuras hiperramificadas. Al tratar con un monómero electroattractor como el anhídrido maleico y un electrodonador como el estireno se preparó un copolímero alternado.

Hasta aquí hemos visto los ejemplos de inimers y fermers. Con esto en mente, al emplear un grupo RAFT o una alcoxiamina se puede desarrollar un macroiniciador, tal y como se hizo en este trabajo, al usar una alcoxiamina y que se desarrollará en el capítulo 3.

Un ejemplo prometedor para las aplicaciones que buscamos con este proyecto, es el caso de la síntesis de glicopolímeros hiper-ramificados presentado en 2012²³.

En este trabajo se reportó el uso del MCFP el cual aparece en la Figura 9:

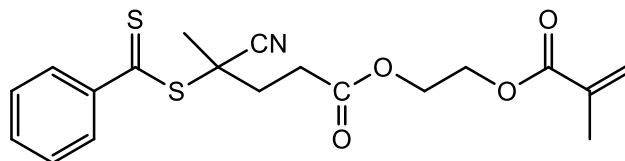


Figura 9 Estructura del 2-(metacriloxi) etil m4-ciano-4-(fenilcarbonotioiltio) pentanoato.

El MCFP mostrado en la Figura 9, fue reportado en la síntesis de estructuras hiperramificadas que buscaban aplicaciones en el campo de los biomateriales. En este caso se podría aplicar en biomimética de polisacáridos, los cuales son una clase de biopolímeros muy importantes que presentan una arquitectura hiper-ramificada que puede ser alcanzada en una forma relativamente fácil mediante el uso de RAFT fermers y que logró la síntesis de glicopolímeros sin la formación de geles insolubles.

Como se describe en el párrafo anterior, la técnica RAFT puede ser utilizada para campos biológicos. Sin lugar a dudas el campo médico será una de las principales áreas campo que se transformará por completo durante los siguientes años, es por ello que en la siguiente sección se realiza una revisión de las principales áreas médicas en dónde las técnicas de polimerización controlada ya están siendo aplicadas.

1.2 Aplicaciones Potenciales

Sin lugar a dudas uno de los campos más prometedores para la aplicación de copolímeros y/o materiales con arquitectura controlada es el campo biomédico.

Dentro del área biomédica puede hablarse de la liberación controlada de fármacos,^{24–26} la ingeniería de tejidos,^{27–30} nanomedicina,^{31–33} etc. En las secciones siguientes se presentan algunos ejemplos relevantes de estas aplicaciones.

1.2.1 Liberación controlada de fármacos

El diseño y síntesis de sistemas eficientes para liberación de fármacos son de vital importancia para la medicina y el cuidado de la salud. La innovación de materiales y nanotecnología han logrado avances para la liberación de fármacos. La innovación en química de materiales permite la generación sistemas biodegradables, biocompatibles, de estímulo-respuesta, se logra el control de tamaño, forma y multifuncionalidad de los sistemas.³⁴

En un esfuerzo por mejorar el desempeño de la liberación de fármacos se han desarrollado nuevos materiales con respuesta a estímulos *dual o multi*, es decir, por una combinación de estímulos como puede ser pH/temperatura, pH/campo magnético, temperatura/reducción, temperatura/reducción/pH. Estos estímulos pueden ocurrir tanto de forma simultánea o de forma secuencial, llevando la eficiencia en la liberación de fármacos a niveles sin precedentes.²⁶

Actualmente se investigan distintos métodos para la obtención de los copolímeros con características deseadas mediante técnicas de polimerización controlada como ATRP y RAFT. Dependiendo de la aplicación final y la función deseada, se pueden lograr distintas arquitecturas como polímeros tipo peine.²⁴

1.2.2 Nanomedicina

En los inicios, el concepto de nanomedicina surgió de una visionaria idea de que pequeños nanorobots y máquinas relacionadas podrían ser diseñadas, manufacturadas e introducidas en el cuerpo humano para desarrollar reparaciones celulares a nivel molecular.³¹

Podemos encontrar el uso nanomateriales inorgánicos o híbridos para lograr avances médicos innovadores para la liberación de fármacos o genes, biomarcadores, diagnóstico molecular entre otros.³³ La nanomedicina se enfoca en la aplicación de la nanotecnología al campo médico, particularmente con la promesa de mejorar la terapia y diagnóstico y la reducción de efectos colaterales.

El desarrollo de nanopartículas magnéticas son un ejemplo de nanomateriales con rápido crecimiento, las cuales son usadas en imagen por resonancia magnética, liberación guiada de fármacos y genes e ingeniería de tejidos.³³

La ingeniería de tejidos es el campo al que se pretende llevar el uso del EAFT y por ello se da una descripción de este campo en la siguiente sección 1.2.3

1.2.3 Ingeniería de Tejidos

La ingeniería de tejidos es un campo interdisciplinario dedicado a la regeneración de tejidos humanos funcionales.³⁵ Los campos de estudio que se ven involucrados en la ingeniería de tejidos son la ingeniería, química, biología, y medicina.³⁶

La aplicación de la ingeniería de tejidos es tan amplia y compleja como lo es el cuerpo humano, entre ellas podemos encontrar la reparación de tejido neural^{37,38}, cardíaco³⁹, óseo⁴⁰ y tejido cartilaginoso.^{41,42} Dentro de las posibles aplicaciones de la ingeniería de tejidos, es de nuestro interés la elaboración de andamios poliméricos para la regeneración de tejido cartilaginoso de tendones.⁴²

La regeneración de cartílago es de vital interés debido a:⁴¹

- Al incremento en el número de artritis reumatoide, osteoartritis y lesiones en rodilla y articulaciones que generan desordenes en el cartílago que reducen la movilidad y calidad de vida.
- La incapacidad del cartílago adulto para regenerarse después de una lesión o enfermedad.
- La baja eficiencia de tratamientos terapéuticos y estrategias quirúrgicas para resolver dichas lesiones en la población mayor a 40 años.

El cartílago articular consiste de matriz extracelular (ECM)⁴³, la cual es una mezcla compleja de macromoléculas que autoensamblan en una red nanofibrilar supramolecular que llenan el espacio extracelular.

Estructuralmente las funciones de la ECM son conectar, integrar y soportar células. Químicamente la ECM regula el crecimiento celular mediante dos clases principales de macromoléculas: glicosaminoglicanos, los cuáles están predominantemente unidos a proteínas para formar proteoglicanos. Los proteoglicanos desempeñan un papel fundamental en las propiedades mecánicas del tejido, y que como puede observarse en la Figura 10 presentan una arquitectura que asemeja a un polímero tipo peine⁴⁴.

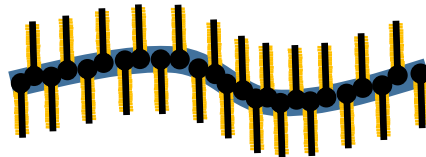


Figura 10 Esquema no proporcional de la estructura de un proteoglicano

Cuando algún componente de la ECM presenta alguna alteración, se puede presentar una disminución en el desarrollo y crecimiento de cartílago. El cartílago necesita señales moleculares para su desarrollo y mantenimiento, como factores de crecimiento, que pueden encontrarse en la ECM.⁴³

La ingeniería de tejidos aplicada a la reparación del cartílago articular está basada en:⁴¹

- Desarrollo de andamios.
- Uso de células madre.
- Aplicación de estímulos físicos o biológicos.

Los andamios guían a las células durante la regeneración del tejido, lo que provee una estructura temporal para la alimentación de células y la síntesis de nueva ECM natural. En general los defectos de cartílago son llenados con andamios para permitir que se organice la reparación de tejido.

Los polímeros pueden formar andamios versátiles tanto como fibras o geles, los cuales pueden ser químicamente funcionalizados para mejorar la bioactividad y ser fácilmente degradados dentro del cuerpo.³⁵

Actualmente la fabricación de estos andamios pueden realizarse mediante las siguientes técnicas:²⁹

- Separación de fases.
- Auto-ensamblaje.
- Electrohilado.

La separación de fases es una técnica que genera materiales con una morfología similar a una espuma con muros a nanoescala, en lugar de fibras, creando un casco poroso.²⁹

El auto-ensamblaje es la organización espontánea de moléculas para formar estructuras ordenadas a nanoescala con diámetros que va de 1-10 nm; sin embargo, esta es una técnica complicada que consume tiempo y es sumamente limitada.²⁹

Finalmente está el electrohilado⁴⁵ el cuál, como se verá, en la siguiente sección resulta ser la opción más viable.

1.2.3.1 Electrohilado

El interés en la fabricación de nanofibras usando la técnica de electrohilado ha llamado la atención debido a su versatilidad para producir fibras con estructura controlada, porosidad, orientación y dimensión.

El electrohilado genera matrices tridimensionales con alta porosidad y elevada área superficial, la cual puede imitar a la ECM lo que vuelve a esta técnica una excelente opción para aplicaciones en la ingeniería de tejidos.⁴⁶

El uso de esta técnica en la ingeniería de tejidos actualmente está concentrado en lo siguiente:⁴⁶

- Formación de matrices de diferentes biomateriales para imitar las dimensiones físicas de la ECM natural, geometría y morfología a nanodimensiones.
- Modificación del proceso de electrohilado para la imitación de la ECM proveyendo una proliferación mejorada y diferenciación celular.

Esta técnica usa fuerzas electrostáticas para producir fibras finas de una solución de polímero o mezcla y las fibras producidas tienen diámetros que van de los

nanómetros a los micrómetros y una alta área superficial.⁴⁷

El principio básico del electrohilado es la aplicación de alto voltaje a la solución de polímero para superar la tensión superficial y crear un chorro que atraviesa el campo eléctrico hacia el colector, simultáneamente con la velocidad con la que el chorro impacta en el colector el solvente es evaporado, dejando las fibras secas.⁴⁸

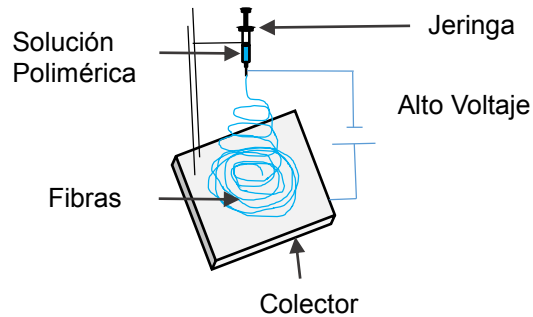


Figura 11 Representación del proceso de electrohilado.

47

El electrohilado, resulta pues ser una herramienta muy útil que se puede aprovechar para generar fibras de los copolímeros que eventualmente se generarían, las cuáles serían evaluadas de acuerdo a la aplicación que se busca.

Justificación

La información hasta aquí presentada nos sirve de marco para presentar el trabajo que en las siguientes secciones se detalla. Resulta de suma importancia lograr el desarrollo de biomateriales con características controladas que puedan ser aplicados en problemas de salud del ser humano, no solo por enfermedad sino también los generados por accidentes.

Para llegar a ese punto se decidió implementar este trabajo, el cual busca introducir el concepto de la polimerización tándem como herramienta para lograr el diseño de estos materiales biocompatibles.

Objetivos.

Los objetivos que se establecieron en el desarrollo de este proyecto son:

- Sintetizar un monómero con sitio iniciante (Inimer)
- Generar, a partir del inimer, un macro agente heteromultifuncional.
- Obtener copolímeros en peine empleando el macroagente heteromultifuncional.

Hipótesis

Es posible realizar la modificación de un monómero vinílico para incorporar una alcoxiamina que actúe como sitio iniciante y poder implementar una copolimerización vía RAFT a temperatura de 65 °C mientras se mantiene latente un sitio para iniciar una polimerización mediada por nitróxidos a temperatura de 125 °C dando, como resultado de estas polimerizaciones, copolímeros tipo peine.

Capítulo 2. Metodología experimental

2.1 Tratamiento de reactivos, monómeros y solventes.

Los reactivos utilizados para el desarrollo de este trabajo fueron adquiridos de Sigma-Aldrich, algunos fueron sometidos a técnicas de purificación mientras que otros se usaron tal y como se recibieron.

El estireno (99.9%) se destiló a presión reducida empleando sodio metálico como agente secante. El n-butil acrilato (99%) se destiló a presión reducida utilizando para secar el hidruro de calcio. La n-isopropilacrilamida (99%) fue recristalizada en hexano frío, el ácido acrílico se purificó por contacto con sílica gel con agitación.

El iniciador 2,2'-azobis(isobutironitrilo) (AIBN) se recristalizó en etanol ligeramente caliente, el AIBN recuperado se lavó con etanol frío y secó a temperatura ambiente con presión reducida.

El 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi (TEMPO, 99%), el bromo (99%), tetracloruro de carbono anhidro (CCl_4 , 99.5%), fluoruro de potasio (KF), y sulfato ácido de tetrabutilamonio (TBAHSO_4) se utilizaron de forma directa, sin métodos adicionales de purificación.

El tetrahidrofurano (THF, 99.9%) se utilizó recién destilado usando como secante un complejo de sodio metálico/benzofenona. Se utilizó dioxano grado reactivo (99%).

2.2 Caracterización

2.2.1 Cromatografía por exclusión de tamaños (SEC)

Para la determinación de los parámetros moleculares de los polímeros obtenidos en este trabajo se utilizó la técnica SEC. Las mediciones se llevaron a cabo en un Cromatógrafo de líquidos Hewlett Packard serie 1100 acoplado a un software PLGPC. El equipo cuenta con detector de UV y un refractómetro diferencial. El tamaño de poro de las columnas es de 10^3 , 10^4 , 10^5 Å. El eluente empleado fue THF grado HPLC utilizando un flujo de 1ml/min. La curva de calibración utilizada para el cálculo de los pesos moleculares se realizó a partir de estándares de poliestireno (580 - 3,900,000 g/mol).

2.2.2 Resonancia magnética nuclear (RMN)

La técnica de RMN se utilizó para la caracterización química del inimer y para determinar la funcionalización de los polímeros. Se trabajó con un equipo Jeol 300 MHz, las muestras se prepararon en CDCl_3 y se colocó en un tubo de cuarzo con un diámetro de 5mm.

2.3 Síntesis

2.3.1 Síntesis del 2,2,6,6-tetrametil-1-(2-bromo-1-feniletoksi) piperidina (TMBF).

Uno de los propósitos de este trabajo fue el desarrollo de un monómero/iniciador (*inimer*). La síntesis del inimer se realizó en dos etapas.

La primera etapa, consistió en la formación del aducto 2,2,6,6-tetrametil-1-(2-bromo-1-feniletoksi) piperidina -TMBF- la cual se realizó con base en la publicación de Kobatake⁴⁹ mientras que la segunda etapa se desarrolló mediante una variante de la reacción de esterificación publicada por Takashi.⁵⁰

Para La síntesis del TMBF se implementó un sistema formado por un matraz bola de 3 bocas, acoplado con un condensador y un embudo de adición. Este

sistema fue sometido a presión reducida y expuesto a flama directa de un mechero de bunsen con la finalidad de eliminar la humedad que pudiera estar presente en el sistema, después del proceso de flameado se alimentó una corriente de argón hasta saturar el sistema con el objetivo de tener una atmosfera inerte.

Una vez instalado el sistema se agregaron los distintos reactivos en el siguiente orden. Se disolvieron 1.6 g de TEMPO en CCl_4 y se agregaron (con la ayuda de un embudo), en seguida se agregó bromo molecular (0.84 g) lentamente con el uso de un embudo de adición y el sistema se mantuvo con agitación (magnética) vigorosa durante 30 minutos, al realizar este paso se forma un compuesto sólido de color café. Una vez concluidos los 30 minutos se adicionó estireno recién destilado usando un embudo de adición y se mantuvo con agitación (magnética) vigorosa durante 3 horas bajo atmósfera de argón.

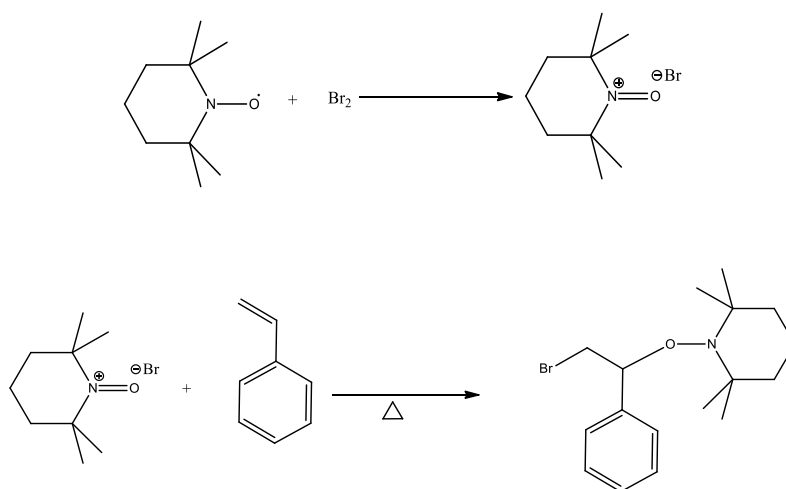


Figura 12 Formación del 2,2,6,6-tetrametil-1-(2-bromo-1-feniletoxi) piperidina (TMBF)

Al transcurrir el tiempo de reacción se realizó un lavado con agua y el TMBF se recuperó con *n*-hexano, el producto extraído en *n*-hexano se secó con sulfato de magnesio y el exceso de disolvente se eliminó mediante rota-evaporación. El producto crudo se secó en estufa a 60 °C con presión reducida durante 24 horas.

Posteriormente el producto se purificó por cromatografía de columna, empleando sílica gel como fase estacionaria y benceno como eluente. El exceso de benceno se eliminó mediante rota-evaporación y se obtuvo finalmente un producto incoloro.

2.3.2 Síntesis de etil acrilato de 2-fenil,2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) (EAFT)

Una vez fue aislado al TMBF se efectuó una reacción de esterificación.

Se montó un sistema formado por un matraz bola de 3 bocas, acoplado con un condensador. Este sistema fue sometido a presión reducida y expuesto a flama directa de un mechero de Bunsen con la finalidad de eliminar la humedad que pudiera estar presente.-Después del proceso de flameado se alimentó un flujo de argón hasta saturar el sistema con el objetivo de tener una atmosfera inerte.

Tras instalar el sistema se agregaron los reactivos correspondientes de la siguiente manera: se mezcló sulfato ácido de tetrabutilamonio (TBAHSO₄, 0.1101g) con fluoruro de potasio dihidratado (KF·2H₂O, 1.101g) en THF recién destilado, y se calentó durante 15 minutos con agitación (magnética) vigorosa. Posteriormente , se agregó al sistema una solución de ácido acrílico (0.6493) con el TMBF (0.5210) en THF, y se mantuvo a 65 °C durante 12 horas con agitación (magnética) constante, este tiempo es satisfactorio ya que se tienen reportes para preparar distintos inimers con tiempos de reacción de 18 horas.¹⁶ Cabe mencionar que se logró disminuir el tiempo de reacción en un 16.6% sin afectar el rendimiento de la reacción.

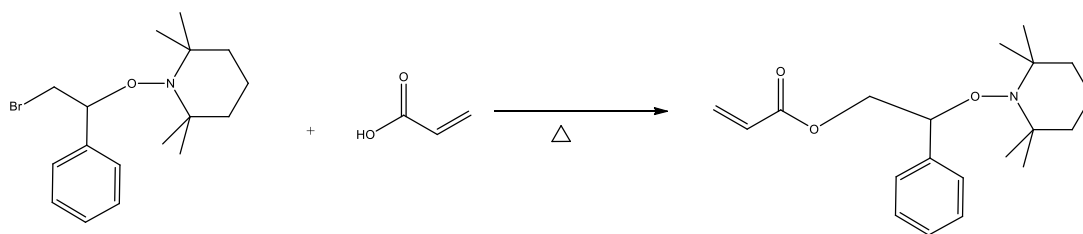


Figura 13 Formación del etil acrilato de 2-fenil,2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) (EAFT)

Transcurrido el tiempo de reacción se efectuó un lavado con agua y el producto se recuperó con dietil éter, el producto recuperado se secó con sulfato de magnesio y el exceso de solvente fue eliminado mediante rota-evaporación, el producto obtenido se secó a 60 °C bajo vacío durante 24 horas.

Al transcurrir el tiempo de secado el producto se purificó empleando la técnica de cromatografía de columna. Para llevar a cabo la purificación del inimer se utilizó sílica gel como fase estacionaria y hexano/eter (10:1) como eluente, el exceso de

solvente se retiró mediante rotaevaporación y el producto final fue un sólido incoloro, opaco, el cual se secó en estufa a 60 °C durante 24 horas antes de ser utilizado para las distintas polimerizaciones.

2.3.3 Copolimerizaciones

Las copolimerizaciones realizadas se desarrollaron en una primera etapa vía RAFT y vía NMP utilizando al EAFT sintetizado y distintos comonómeros. Estas copolimerizaciones se realizaron en masa y se usaron tubos de borosilicato con capacidad de 5 ml, después de agregar la mezcla reactiva (que dependía del tipo de polimerización RAFT o NMP) al tubo, este fue sometido a 4 ciclos de congelamiento-vacío-descongelamiento y posteriormente fueron sellados bajo vacío usando una flama gas/oxígeno. Una vez que se sellaron los tubos estos fueron colocados en un baño de aceite a distintas temperaturas.

Al concluir el tiempo de polimerización los tubos se retiraron del baño de aceite y fueron enfriados para detener el proceso de polimerización y posteriormente la mezcla fue expuesta a la atmósfera. El polímero resultante se disolvió utilizando para ello un disolvente apropiado (que dependió del polímero en proceso) y precipitado en un no-disolvente (que dependió del polímero en proceso, en algunas ocasiones se utilizó un baño de hielo para lograr una mejor precipitación).

Después de recuperar el polímero, se secó en estufa a 40 °C hasta llevarlo a peso constante, posterior a esto se envió para ser analizado vía SEC y RMN. En seguida se describe de forma puntual el procedimiento de las distintas copolimerizaciones.

Copolimerización entre estireno y etil acrilato de 2-fenil,2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) (S/EAFT)

La copolimerización realizada entre el EAFT y el estireno (S) se llevó a cabo en masa, para ello se utilizó una relación masa S/EAFT = 9, como CTA se utilizó el tritiocarbonato bis α,α' -dimetil- α'' -ácido (BTDA) y como iniciador el 2,2'-azobis(isobutironitrilo) (AIBN).

Con los reactivos mencionados en el párrafo anterior se procedió con la copolimerización con la siguiente relación molar 320/1/0.8 ((90%S/10%EAFT) /AIBN/ BTDA).

Una polimerización típica requirió de 247.4mg de EAFT (0.7464mmol), 2.2273 g (21.38mmol) de S, 1.72mg (0.0609 mmol) de BTDA y 8mg (0.0487mmol) de AIBN.

Primeramente se disolvió el EAFT en el estireno en un vaso de precipitados de 50ml a temperatura ambiente con agitación manual ligera, posterior a esto se agregó el BTDA y se disolvió de la misma forma en que se disolvió el EAFT, finalmente se agregó el AIBN, el cual también fue disuelto sin problemas con el mismo procedimiento.

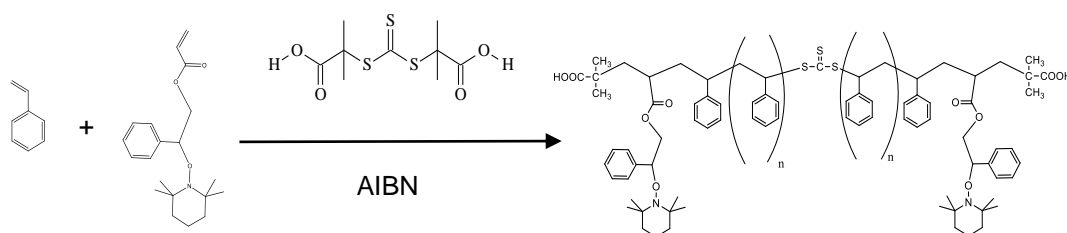


Figura 14 Copolimerización estireno y EAFT llevada a cabo en masa, a 65°C durante 8h

Una vez que se tuvo la mezcla totalmente homogénea se trasladó a un tubo de borosilicato con capacidad de 5 ml. El tubo fue sometido a 4 ciclos de congelamiento-vacío-descongelamiento y posteriormente fue sellado bajo vacío usando una flama gas/oxígeno. Después del sellado el tubo fue colocado en un baño de aceite a 65 °C durante 8 horas.

Al terminar el tiempo de reacción el tubo se retiró del baño de aceite, se limpió, se enfrió con un baño de hielo y se expuso la mezcla a la atmósfera. Para su

purificación el copolímero resultante denominado “PSI” fue disuelto en cloroformo grado analítico y precipitado en exceso de metanol frío 3 veces, se decantó el no solvente para enviar el producto a secarse en estufa a 40 °C y presión reducida hasta llevarlo a peso constante, posterior a esto se envió para ser analizado vía SEC y RMN.

Extensión de PSI con n-butilacrilato mediante polimerización RAFT

La extensión vía RAFT que se realizó para el copolímero PSI, se llevó a cabo usando como un comonomero al n-butilacrilato (nBA), en este caso la polimerización se hizo en solución, usando 1,4 dioxano como solvente.

En una polimerización típica se utilizó una relación masa nBA/PSI = 10, se utilizaron 1.02g (7.95mmol) de n-butilacrilato, 0.1014g (.009mmol) del macroagente PSI, y se agregaron 5.8 mg de iniciador AIBN.

Para realizar esta reacción se colocó el comonomero BuA en un vaso de precipitados de 50ml, posteriormente se añadió el macroagente PSI para que se disolviera mediante agitación manual ligera, posteriormente se agregó el iniciador AIBN y finalmente se agregaron 3 ml de solvente.

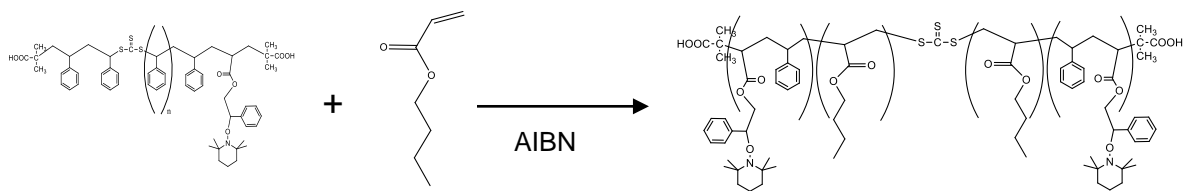


Figura 15 Extensión de PSI con *n*-butilacrilato mediante polimerización RAFT, solvente dioxano, 65°C, 4h

Al tener la mezcla homogénea se trasladó a un tubo de borosilicato con capacidad de 7 ml. El tubo fue sometido a 4 ciclos de congelamiento-vacío-descongelamiento y posteriormente fue sellado bajo vacío usando una flama gas/oxígeno. Después del sellado el tubo fue colocado en un baño de aceite a 65 °C durante 4 horas.

Al concluir el tiempo de reacción el tubo se retiró del baño de aceite, se enfrió en un baño de hielo y la mezcla se expuso a la atmósfera, el copolímero fue purificado por precipitación en exceso de metanol frío 3 veces. Se decantó el no solvente para enviar el producto a secarse en estufa a 40 °C y presión reducida hasta llevarlo a peso constante, posterior a esto se envió para ser analizado vía SEC y RMN.

Copolimerización del n-butilacrilato y 2-fenil,2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) (nBA/EAFT)

La copolimerización realizada entre el EAFT y el nButil Acrilato (nBA) se llevó a cabo en masa y se buscó incrementar el número de sitios probables de injerto, para ello se utilizó una relación masa nBA/EAFT = 3.8, como CTA se utilizó el BTDA y como iniciador el AIBN.

Con los reactivos mencionados en el párrafo anterior se procedió con la copolimerización con la siguiente relación molar (nBA/EAFT)/BTDA/AIBN; 176/1/0.8

Una polimerización típica requirió de 106.49mg de EAFT (0.7249mmol), 405.7mg (2.76mmol) de nBA, 4.7mg (0.0168mmol) de BTDA y 2.6mg (0.0158mmol) de AIBN.

Primeramente se disolvió el EAFT en el nBA en un vaso de precipitados de 50ml a temperatura ambiente con agitación manual ligera, posterior a esto se agregó el BTDA y se disolvió de la misma forma en que se disolvió el EAFT, finalmente se agregó el AIBN el cual también fue disuelto sin problemas con el mismo procedimiento.

Una vez que se tuvo la mezcla totalmente homogénea se trasladó a un tubo de borosilicato con capacidad de 5 ml. El tubo fue sometido a 4 ciclos de congelamiento-vacío-descongelamiento y posteriormente fue sellado bajo vacío usando una flama gas/oxígeno. Después del sellado el tubo fue colocado en un baño de aceite a 65 °C durante 1 hora.

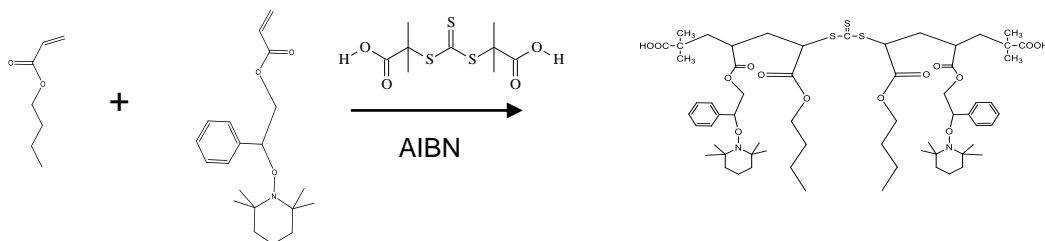


Figura 16 Copolimerización del *n*-butilacrilato y EAFT, en masa a 65°C, 1h

Al terminar el tiempo de reacción el tubo se retiró del baño de aceite, se limpió, se enfrió con un baño de hielo y se expuso la mezcla a la atmósfera. Para su purificación el copolímero resultante denominado "PBAI" fue disuelto en cloroformo grado analítico y precipitado en exceso de metanol frío 3 veces, se decantó el no solvente para enviar el producto a secarse en estufa a 40 °C y presión reducida hasta llevarlo a peso constante, posterior a esto se envió para ser analizado vía SEC y RMN.

Extensión de PBAI con n-isopropilacrilamida (nipam) mediante polimerización RAFT

La extensión vía RAFT que se realizó para el copolímero PBAI se llevó a cabo usando como comonómero al *n*-isopropilacrilamida (nipam), en este caso la polimerización se hizo en solución, usando 1,4 dioxano como solvente.

En una polimerización típica se utilizó una relación masa NIPAM/PBAI = 4.6, se utilizaron 215.3mg (0.001mmol) de PBAI, 1.0086g (8.9mmol) del monómero NIPAM, y se agregaron 4.95 mg de iniciador AIBN.

Para desarrollar esta reacción se colocó el comonómero NIPAM en un vaso de precipitados de 50ml, posteriormente se añadió el macroagente PBAI para que se disolviera mediante agitación manual ligera, posteriormente se agregó el iniciador AIBN y finalmente se agregaron 3 ml de dioxano como solvente.

La mezcla homogénea se trasladó a un tubo de borosilicato con capacidad de 7 ml. El tubo fue sometido a 4 ciclos de congelamiento-vacío-descongelamiento y

posteriormente fue sellado bajo vacío usando una flama gas/oxígeno. Después del sellado el tubo fue colocado en un baño de aceite a 65 °C durante 4.5 horas.

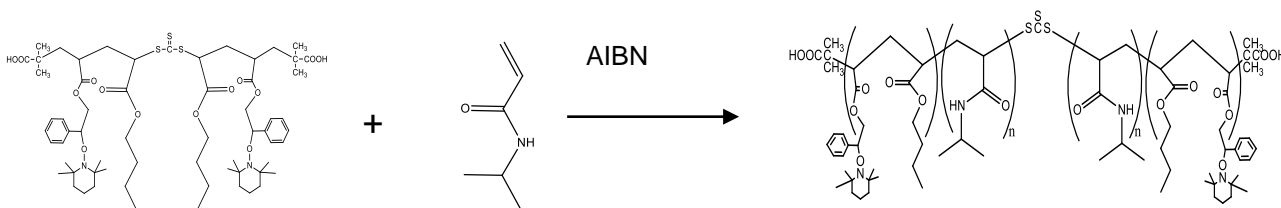


Figura 17 Extensión de PBAI con n-isopropilacrilamida (nipam) mediante polimerización RAFT, solvente dioxano, 4.5 h

Al concluir el tiempo de reacción el tubo se retiró del baño de aceite, se enfrió en un baño de hielo y la mezcla se expuso a la atmósfera, el copolímero (PBAI-b-PNIPAM) fue purificado por precipitación en exceso de hexano frío 3 veces. Se decantó el no solvente para enviar el producto a secarse en estufa a 40 °C y presión reducida hasta llevarlo a peso constante, posterior a esto se envió para ser analizado vía SEC y RMN.

Copolimerización Mediada por Nitróxidos

La copolimerización mediada por nitróxidos NMP se realizó para probar el funcionamiento de la alcoxiamina presente en EAFT.

Para esto se utilizó el macroagente PBAI y como comonómero se empleó estireno (S), la reacción procedió en masa y para su desarrollo se utilizó una relación masa S/PBAI = 5.55, hay que mencionar que para esta reacción, a diferencia de las detalladas anteriormente, no se utilizó iniciador, pues la alcoxiamina realiza tal función por activación térmica.

Una polimerización típica requirió de 574.87mg de PBAI (0.04mmol), 3.1941g (30.66mmol) de S.

Primeramente se depositó el estireno en un vaso de precipitados de 50ml a temperatura ambiente posterior a esto se agregó el PBAI y con agitación manual ligera se logró disolver.

Una vez que se tuvo la mezcla totalmente homogénea se trasladó a un tubo de borosilicato con capacidad de 7 ml. El tubo fue sometido a 4 ciclos de congelamiento-vacío-descongelamiento y posteriormente fue sellado bajo vacío usando una flama gas/oxígeno. Después del sellado el tubo fue colocado en un baño de aceite a 125 °C durante 3 horas.

Al terminar el tiempo de reacción el tubo se retiró del baño de aceite, se limpió, se enfrió con un baño de hielo y se expuso la mezcla a la atmósfera. Para su purificación el copolímero (PBAI-g-PS) fue disuelto en cloroformo grado analítico y precipitado en exceso de metanol frío 3 veces, se decantó el no solvente para enviar el producto a secarse en estufa a 40 °C y presión reducida hasta llevarlo a peso constante, posterior a esto se envió para ser analizado vía SEC y RMN.

Copolimerización de injerto de estireno usando PBAI como iniciador NMP

Esta reacción se realizó para probar el carácter viviente del copolímero PBAI para esto se utilizó como comonomero estireno, la reacción procedió en masa y para su desarrollo se empleó una relación masa S/PBAI= 5, sin iniciador.

Una polimerización típica requirió de 250mg de PBAI (0.002mmol), 1.25g (12mmol) de St.



Figura 18 Copolimerización de injerto de estireno empleando PBAI como macroiniciador NMP

Primeramente se depositó el estireno en un vaso de precipitados de 50ml a temperatura ambiente posterior a esto se agregó el PBAI y con agitación manual ligera se logró disolver.

Una vez que se tuvo la mezcla totalmente homogénea se trasladó a un tubo de borosilicato con capacidad de 7 ml. El tubo fue sometido a 4 ciclos de congelamiento-vacío-descongelamiento y posteriormente fue sellado bajo vacío usando una flama gas/oxígeno. Después del sellado el tubo fue colocado en un baño de aceite a 125 °C durante 2 horas.

Al terminar el tiempo de reacción el tubo se retiró del baño de aceite, se limpió, se sometió a un enfriamiento rápido (quenching) y se expuso la mezcla a la atmósfera. Para su purificación el copolímero fue disuelto en cloroformo grado analítico y precipitado en exceso de metanol frío 3 veces, se decantó el no solvente para enviar el producto a secarse en estufa a 40 °C y presión reducida hasta llevarlo a peso constante, posterior a esto se envió para ser analizado vía SEC.

Capítulo 3. Resultados y Discusiones

3.1 Etil acrilato de 2-fenil 2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) (EAFT)

Como se mencionó en la sección anterior la síntesis del inimer se desarrolló en dos etapas, en la primera etapa se trabajó la síntesis de la sal 2,2,6,6-tetrametil-1-(2-bromo-1-feniletoksi) piperidina (TMBF) como lo reportó Kobatake.⁴⁹

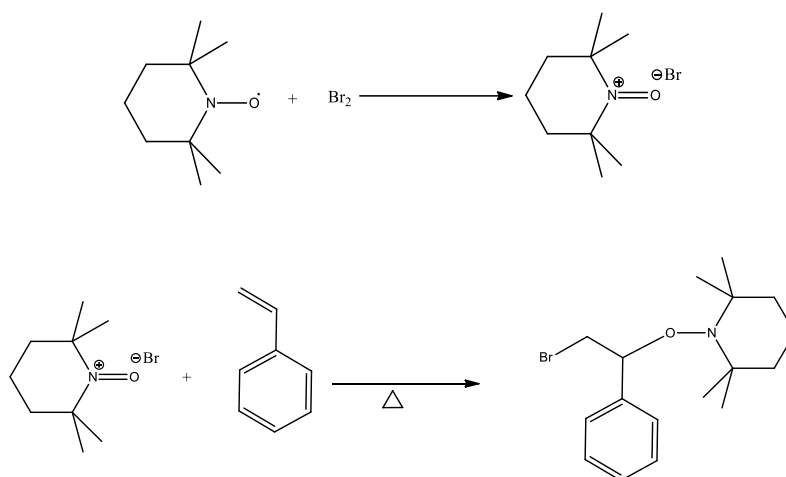
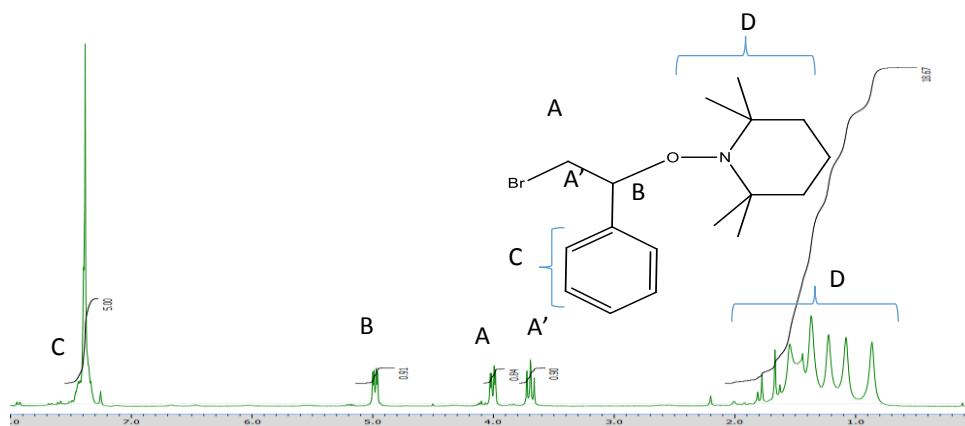


Figura 19 Esquema de la formación del TMBF

El TMBF fue aislado y purificado para su análisis por resonancia magnética nuclear cuyo espectro se muestra en la Figura 20.



En elFigura 20 Espectro RMN ^1H del 2,2,6,6-tetrametil-1-(2-bromo-1-feniletoksi) piperidina (TMBF)

4.88 ppm

que se asigna al protón bencílico. En $\delta = 3.58$ ppm y $\delta = 3.92$ ppm aparecen las señales para los protones del grupo metileno unidos al átomo de bromo⁴⁹. En la región de $\delta = 7.3$ ppm se encuentran señales para los protones del grupo bencil, mientras que en la región de $\delta = 0.9$ -1.6 se encuentran las señales de la alcoxiamina.

Una vez que se tuvo el TMBF aislado se realizó una reacción de esterificación para dar lugar al inimer. Para esta reacción se emplearon 0.5210g de TMBF (1.531mmol), 0.6493g (9.0180mmol) de ácido acrílico, 1.101g (18.95mmol) de fluoruro de potasio, 0.1101g (324 mmol) de sulfato ácido de tetrabutilamonio como se indica en la parte experimental.

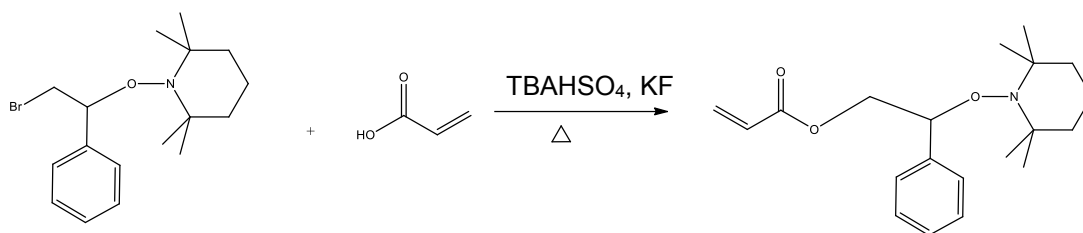


Figura 21 Formación de Etil acrilato de 2-fenil 2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) (EAF)

Una vez transcurrido el tiempo de reacción indicado, el producto fue purificado empleando para este fin la técnica de cromatografía de columna, usando sílica gel como fase estacionaria y hexano/éter (10:1) como eluyente, se colocó a 60 °C y presión reducida durante 24 h para conseguir el secado del material, posterior a esto se tuvo finalmente un producto opaco e incoloro el cual se analizó mediante resonancia magnética nuclear de protón.

A continuación se muestra el espectro obtenido de nuestro inimer al ser disuelto en cloroformo deuterado.

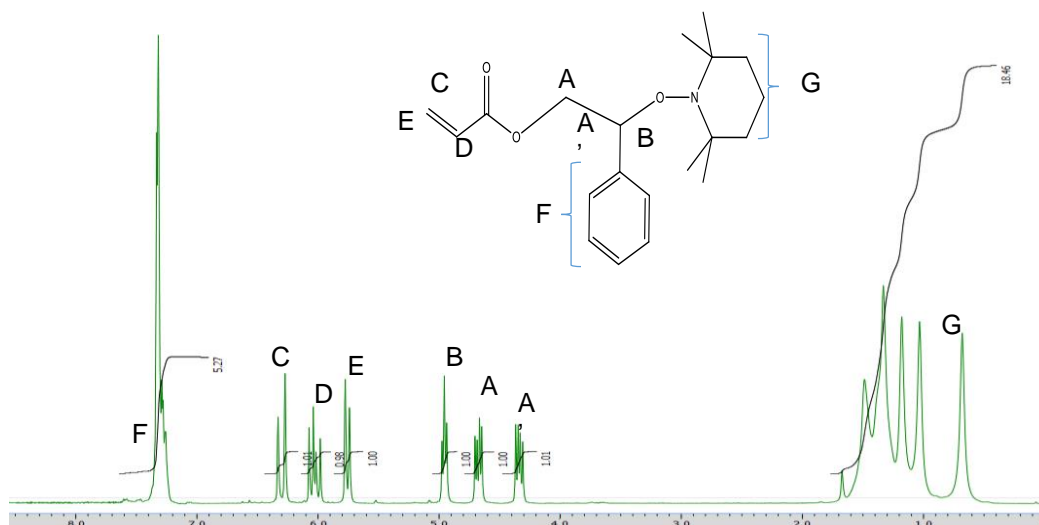


Figura 22 Espectro RMN ^1H del Etil acrilato de 2-fenil 2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) (EAFT)

Al observar el espectro de protón que se obtuvo nos damos cuenta que nuestro producto está prácticamente puro, ya que las señales encontradas corresponden con la estructura propuesta para el EAFT.

En la región $\delta = 0.62\text{-}1.6\text{ppm}$ se ubican las señales que corresponden a los protones del 2,2,6,6-tetrametil-1-(2-hidroxi-1-feniletoksi)-piperidina (TEMPO)⁴⁹.

En la región de $\delta = 4.24\text{-}5.02\text{ ppm}$ están presentes las señales que se asignan a los protones de metileno (A y A'), que han sido desplazados de sus posiciones originales por la presencia del átomo de oxígeno según lo encontrado en la literatura⁴⁹, el desplazamiento químico asignado al metino (B) coincide en $\delta = 4.91\text{ppm}$ con lo reportado por Kobatake.⁴⁹

En la región de $5.65\text{-}6.38\text{ ppm}$ se pueden observar señales que corresponden con el enlace vinílico de nuestra molécula. En la región de $\delta = 7.18\text{-}7.41\text{ ppm}$ encontramos las señales para los protones del grupo fenil.⁴⁹

En seguida se muestra el espectro de RMN ^{13}C que se obtuvo para el compuesto aislado.

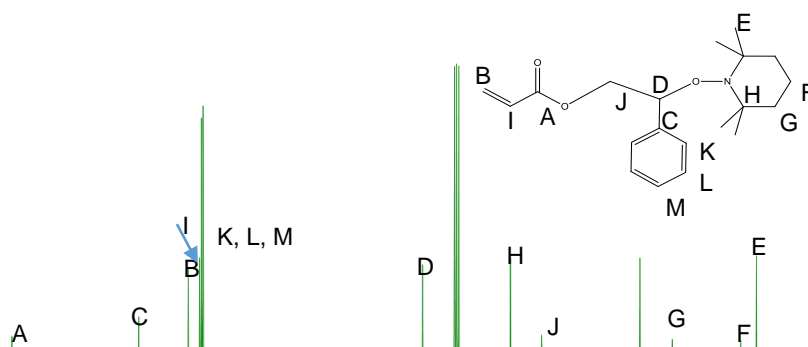


Figura 23 Espectro RMN ¹³C del Etil acrilato de 2-fenil 2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) (EAFT)

En el espectro anterior podemos establecer las señales correspondientes al inimer sintetizado. En la región de $\delta = 165$ ppm se ubica la señal que se atribuye al grupo carbonilo (A), mientras que en la región de $\delta = 127$ -140 ppm se localizan señales que pertenecen al doble enlace carbono-carbono y a los carbonos del grupo fenil (B, C, G, H, I).

En $\delta = 83$ ppm se ubica a la señal asignada al grupo metino (E), en $\delta = 66$ ppm se asignó la señal perteneciente al grupo metileno (D).

En el área de $\delta = 60$ ppm se encuentran las señales correspondientes a los carbonos saturados del grupo nitróxido (M). En $\delta = 34$ ppm se ubican a los carbonos metilenos del grupo nitróxido (L) y en $\delta = 20$ ppm se determinó la presencia de metilos pertenecientes al grupo nitróxido (J) y finalmente en $\delta = 17$ ppm localizamos un grupo metileno del nitróxido (K).

3.2 Copolimerización Etil acrilato de 2-fenil 2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) (EAFT)

Al tener el EAFT sintetizado e identificado por resonancia magnética nuclear se continuó con las primeras pruebas de copolimerización, se decidió probar inicialmente una copolimerización con PEGA ya que es uno de los monómeros más empleados dentro de la investigación de bioaplicaciones.⁵¹

Copolimerización PEGA/EAFT

La copolimerización realizada entre el EAFT y el polietilenglicol (PEGA, $M_n = 480$ g/mol) se llevó a cabo en masa, para ello se utilizó una relación masa PEGA/EAFT = 8.4, como CTA se utilizó el tritocarbonato bis α, α' -dimetil- α'' -ácido (BTDA) y como iniciador el 2,2'-azobis(isobutironitrilo) (AIBN).

Con los reactivos mencionados en el párrafo anterior se procedió con la copolimerización con la siguiente relación molar 129/1/0.8 (monómero/CTA/Iniciador).

Una polimerización típica requirió de 162.7mg de EAFT (0.4908mmol), 1.3672g (2.84mmol) de PEGA, 7.3mg (0.0258mmol) de BTDA y 3.4mg (0.0207mmol) de iniciador.

Primeramente se colocó el PEGA en un vaso de precipitados de 50ml, posteriormente se agregó al EAFT en el vaso que contenía PEGA, a temperatura ambiente con agitación mecánica se disolvió, posterior a esto se agregó el BTDA y se disolvió de la misma forma en que se disolvió el EAFT, finalmente se agregó el AIBN el cual también fue disuelto sin problemas con el mismo procedimiento.

A continuación se muestra el cromatograma obtenido para este copolímero:

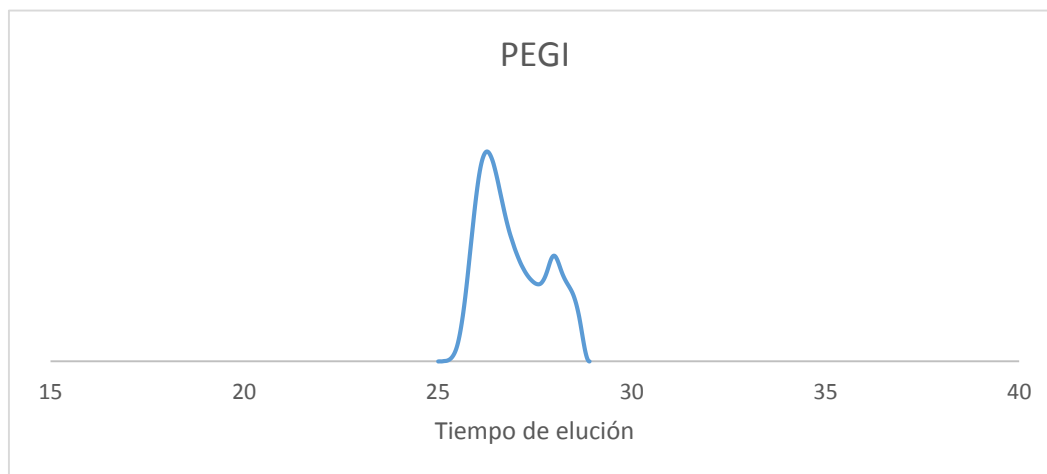


Figura 24 Cromatograma PEGI

El análisis mostrado en la Figura 24 arrojó datos de $M_n = 1,370$ g/mol y un índice de dispersidad $\mathcal{D} = 2.48$. Es claro que la reacción no tuvo el éxito esperado en términos de uniformidad de las cadenas producidas y como se verá en la Figura 25, el espectro obtenido por RMN ^1H , no muestra señales correspondientes a EAFT aunque sí se aprecian señales que corresponden a protones aromáticos

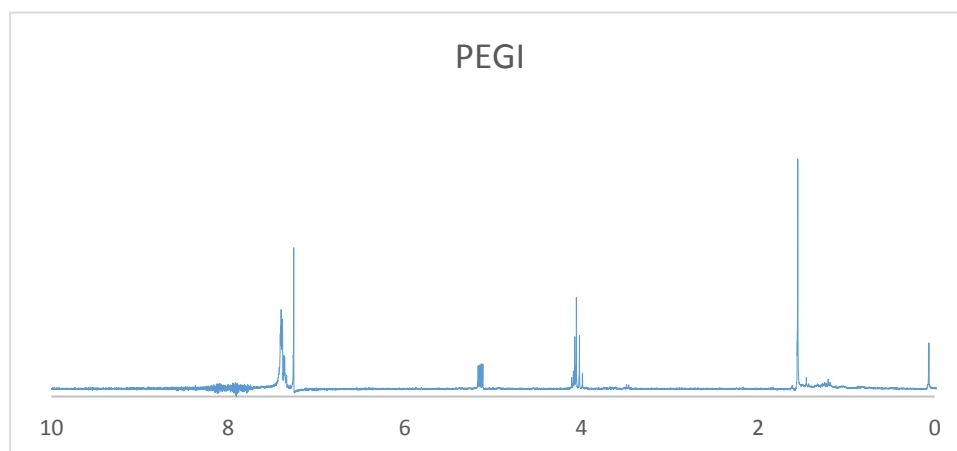


Figura 25 Espectro RMN ^1H PEGI

El resultado no esperado de esta reacción probablemente se debe a una deficiencia en el proceso de purificación del monómero o error en la preparación de la reacción, aunque no se logró la incorporación de EAFT se decidió probar una extensión vía RAFT que a continuación se describe.

Extensión RAFT PEGI

Considerando el hecho de que el análisis RMN no pudo demostrar la existencia de EAFT en la copolimerización con PEG, se intentó una extensión vía RAFT del supuesto copolímero PEGI, para esto se utilizó como comonomero nBA, en este caso la polimerización se hizo en solución, usando 1,4 dioxano como solvente.

En una polimerización típica se utilizó una relación masa nBA/PGEI = 3.5, se utilizaron 1.0059g (7.84mmol) de n-butilacrilato, 0.2850g (.2078mmol) del macroagente PEGI, y se agregaron 4.5 mg de iniciador AIBN.

Para realizar esta reacción se colocó el comonomero nBA en un vaso de precipitados de 50ml, posteriormente se añadió el macroagente PEGI, en seguida se agregó el iniciador AIBN y finalmente se dispusieron 3 ml de solvente y se agitó mecánicamente hasta tener un mezclado total.

Una vez que se tuvo la mezcla homogénea se trasladó a un tubo de borosilicato con capacidad de 7 ml. El tubo fue sometido a 4 ciclos de congelamiento-vacío-descongelamiento y posteriormente fue sellado bajo vacío usando una flama gas/oxígeno. Después del sellado el tubo fue colocado en un baño de aceite a 65 °C durante 4 horas.

Al concluir el tiempo de reacción el tubo se retiró del baño de aceite, se enfrió en un baño de hielo y la mezcla se expuso a la atmósfera, el copolímero fue purificado por precipitación en exceso de metanol frío 3 veces. Se decantó el no solvente para enviar el producto a secarse en estufa a 40 °C y presión reducida hasta llevarlo a peso constante, posterior a esto se envió para ser analizado vía SEC y RMN.

En la Figura 26 se muestra el cromatograma correspondiente a esta extensión RAFT.

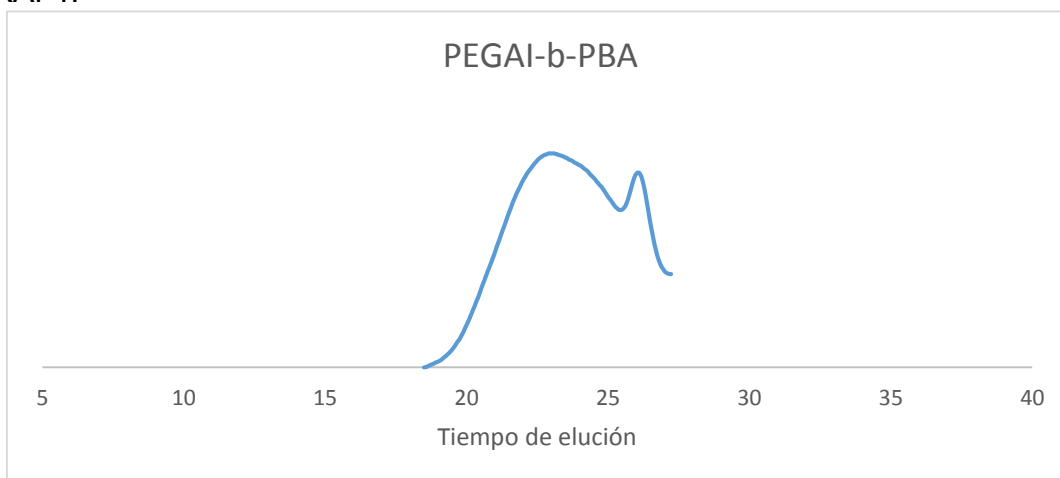


Figura 26 Cromatograma de extensión RAFT PEGAI-b-PBA

Los resultados determinados vía SEC indicaron un $M_n = 16,195$ g/mol y un índice de dispersidad $\bar{D} = 5.12$.

El espectro RMN correspondiente se muestra en seguida:

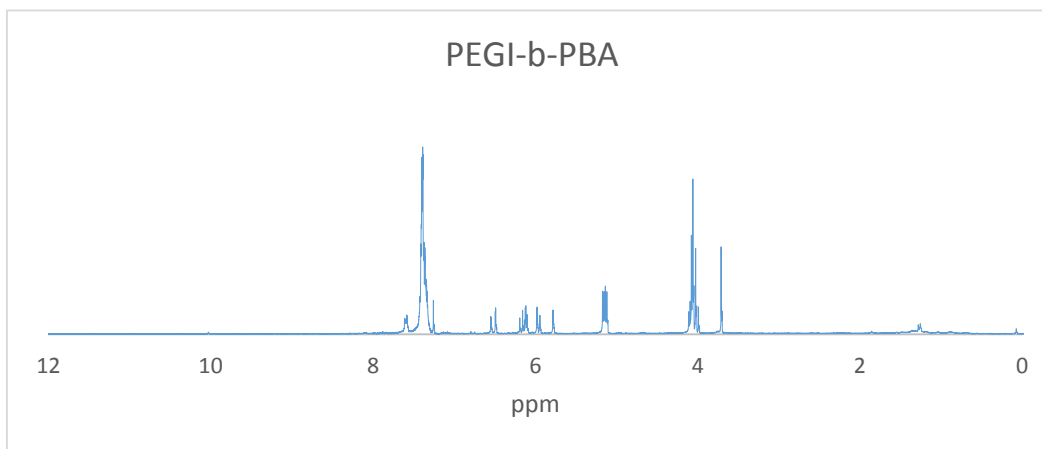


Figura 27 Espectro RMN 1H "PPEGA-EAFT"-b-PBA

Los resultados mostrados en estas reacciones son totalmente indeseados, resulta evidente que la primera copolimerización RAFT no logró la incorporación del agente de transferencia de cadena lo que evitó el control y desarrollo de la reacción, lo cual se pudo constatar al intentar una extensión y tener un índice de dispersidad sumamente amplio, podemos ver en la Figura 27 que el copolímero no pudo ser aislado totalmente pues se observan señales vinílicas, seguramente pertenecientes al nBA ya que en la Figura 26 estas señales no son observadas.

Copolimerización entre estireno y etil acrilato de 2-fenil,2-(2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi) (S/EAFT)

Una vez que se sintetizó, aisló y caracterizó al EAFT, se procedió a realizar una copolimerización usando como comonomero al estireno. Cabe recordar que el copolímero resultante será un macroagente que puede polimerizar vía RAFT o activar una polimerización tándem RAFT/NMP al alcanzar la temperatura idónea.⁵²

La copolimerización y purificación del copolímero resultante procedió como se describió anteriormente en la sección de metodología.

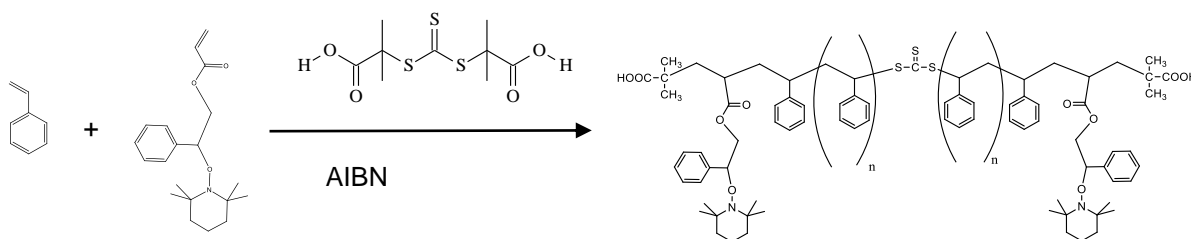


Figura 28 Copolimerización estireno y EAFT llevada a cabo en masa, a 65°C durante 8h

Para realizar las distintas reacciones de polimerización de este trabajo se utilizó un agente de transferencia de cadena bifuncional, en este caso el agente diácido -Bis Tritiocarbonato de (2,2' dimetil-2" ácido acético)- reportado por John Lai⁵³, cuya estructura se presenta a continuación.

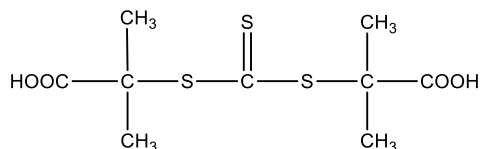


Figura 29 Estructura del Bis Tritiocarbonato de (2,2' dimetil-2" ácido acético) BTDA

Tras desarrollarse la reacción el copolímero resultante se precipitó y se secó durante 24 horas para posteriormente analizarse por cromatografía de exclusión de tamaños.

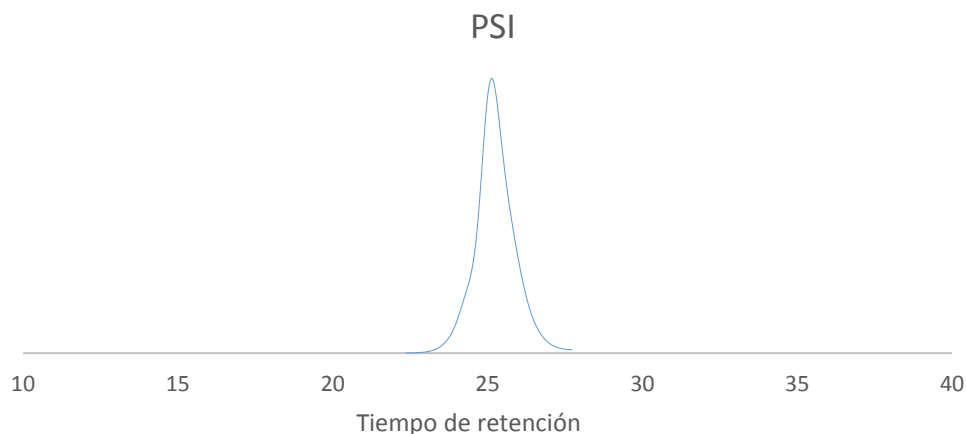


Figura 30 Cromatograma del copolímero PS-r-EAFT

El cromatograma anterior arrojó parámetros moleculares de $M_n = 10,565$ g/mol y un índice de dispersidad $\bar{D} = 1.44$ el cual es un valor cercano a la polimerización RAFT mediada por *Inifers*.⁵²

Presencia de agente de transferencia de cadena RAFT

El producto de la copolimerización presentó una coloración amarilla clara (impartida por el agente de transferencia lo cual es típico en una polimerización RAFT. Para demostrar la estructura del polímero se realizó un tratamiento del copolímero con AIBN/PPh₃ en THF siguiendo la metodología reportada por Schmid⁵⁴ con el objetivo de “romper” el tritioarbonato central. El análisis del producto de este tratamiento fue aislado y secado y luego analizado por SEC. El peso molecular calculado fue de $M_n = 6,673$ g/mol y un índice de dispersidad $\bar{D} = 1.29$. Los cromatogramas de ambas muestras se comparan en la Figura 23.

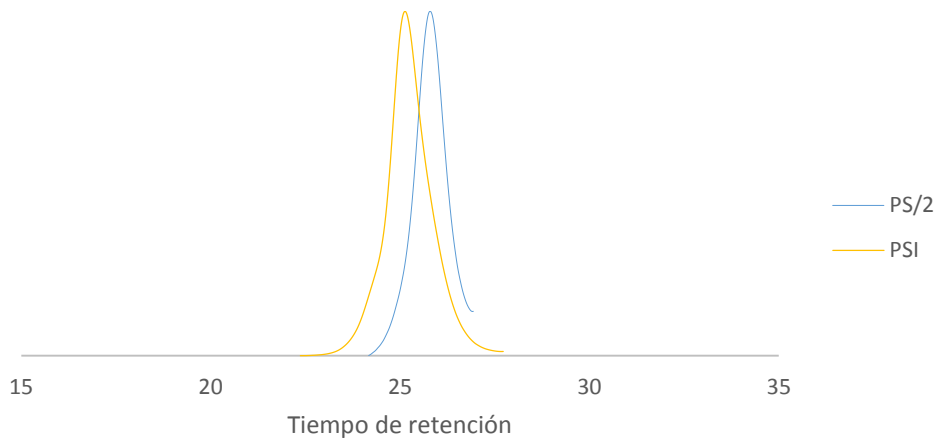


Figura 31 Comparación de cromatogramas post tratamiento $PPh_3+AIBN+THF$

En el gráfico anterior podemos observar el desplazamiento de la curva azul PS/2 respecto a la curva naranja PSI, lo que nos dice que hubo una disminución en el tamaño de las cadenas poliméricas alrededor del 37% lo cual resulta coherente con nuestra presunción de que el grupo tiocarbonilto se encuentra en el centro de la cadena.

La exactitud del análisis deja un poco que desear pero esto es atribuido a que la muestra no es totalmente monomodal. Sin embargo, si se analiza no el promedio de las masas molares sino el peso molecular en el máximo de la señal encontramos resultados más satisfactorios. Para PSI se tiene un $M_{np} = 14,842$ g/mol mientras que para PS/2 el $M_{np} = 7,983$ g/mol. Esto muestra que si hay una disminución de 50% del peso original. Lo más importante es que comprueba que existe el tritocarbonato en todas las cadenas pues no queda ningún pico residual en la posición original de PSI en el cromatograma de PS/2.

Una vez que se comprobó la presencia del agente de transferencia, el copolímero original, PSI, fue analizado por RMN 1H con la intención de comprobar de manera directa la presencia de EAFT en la estructura del polímero.

En el espectro mostrado en la Figura 32 se comparan las señales del PSI y las obtenidas del EAFT se aprecian las señales que corresponden a EAFT, en la región de $\delta = 4.24-4.8$ ppm. Estas señales corresponden con el protón metino y metileno del inimer original el cual se ve ligeramente desplazado a campos bajos en el copolímero. Por otro lado, cerca de la región de $\delta = 6$ ppm se observan señales

vinílicas que corresponden a estireno residual.

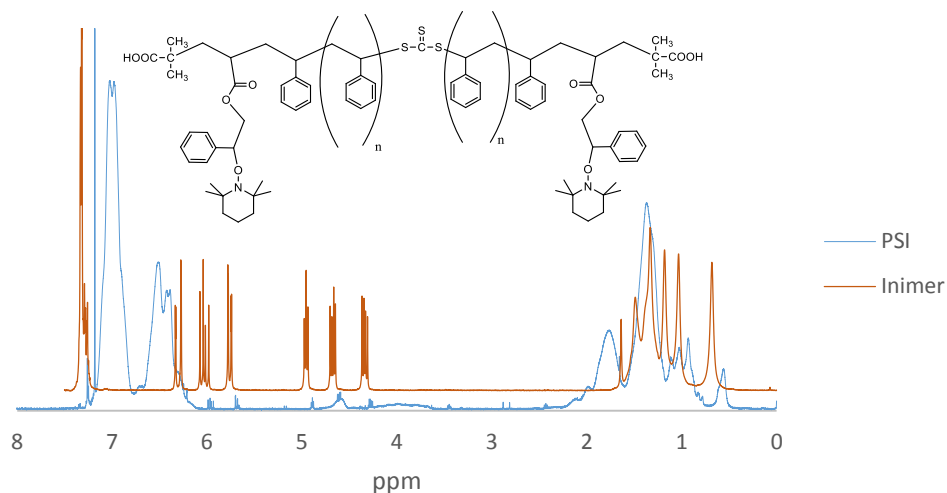


Figura 32 Comparación de espectros RMN ^1H EAFT vs PS-r-EAFT

Con base en estos datos se pudo establecer claramente la presencia de señales correspondientes al compuesto EAFT⁴⁹, en el copolímero.

De acuerdo a las integraciones obtenidas para el espectro del copolímero PSI, en esta reacción se determinó que la concentración de EAFT en el copolímero era de aproximadamente 5% mol, este porcentaje fue usado para establecer un peso molecular promedio de los comonómeros y calcular el DPn.

Tabla 1. Cálculo de DPn PSI

PM _{promedio de monómeros} (g/mol)	Mn _(SECPSI) (g/mol)	DPn
115.52	10,565	91.38

Por lo que la estructura probable debería lucir de la siguiente manera:

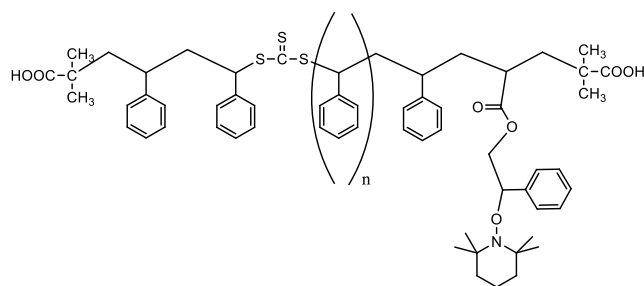


Figura 33 Estructura PS-r-EAFT

3.3 Extensión Vía RAFT

Posteriormente se realizó una extensión del copolímero PSI con butilacrilato (BA), tal como se detalla en la sección de metodología, a 65 °C con una relación en masa BuA/PSI = 10, durante un tiempo de 4 h.

Después de la purificación del copolímero en bloques y posterior secado durante 24 horas se analizó por SEC. El peso molecular calculado fue $M_n = 38,702 \text{ g/mol}$ y un índice de dispersidad $\mathcal{D} = 2.1$.

En la Figura 34, se comparan los cromatogramas del copolímero PSI con el copolímero en bloques PSI-*b*-PBA-*b*-PSI, se graficaron los datos obtenidos por el detector de índice de refracción (IR) y del detector de luz ultravioleta (UV), con la intención de contrastar el comportamiento del copolímero y comprobar que efectivamente hubo una incorporación y que no se trata solo de una mezcla.

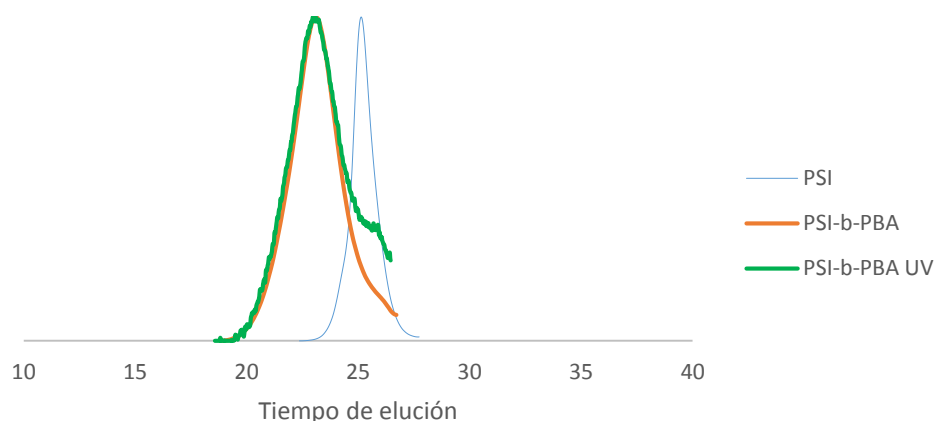


Figura 34 Comparación de cromatogramas PS-r-EAFT vs (PS-r-EAFT)-*b*-PBA-*b*-(PS-r-EAFT) con IR en naranja y UV en verde

Se aprecia que el copolímero inicial PSI incrementó su peso molecular Mn, pues al comparar los cromatogramas correspondientes se observa el desplazamiento de la curva a la izquierda, es decir, disminuyó el tiempo de retención en la columna del equipo SEC consecuencia de un incremento en el peso molecular.

Podemos también observar que la curva generada con datos del detector UV tiene el mismo comportamiento que la curva generada por IR, lo que nos da la certeza de que el butil acrilato se incorporó al PSI.

En esta polimerización se tuvo un rendimiento de 40%, del espectro mostrado en la Figura 35 se obtuvo que la composición del copolímero en acrilato de butilo fue de 87.87%mol mientras que la composición de PSI fue 12.13%mol.

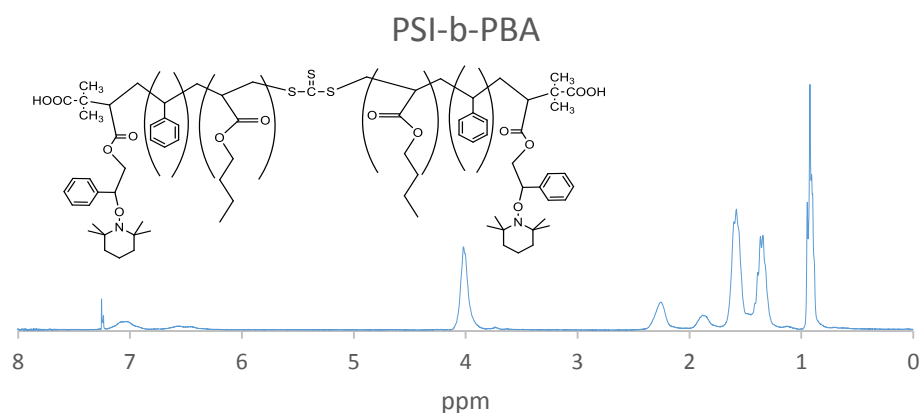


Figura 35 Espectro RMN ^1H (PS-r-EAFT)-b-PBA-(PS-r-EAFT)

Con la composición mol determinada del espectro RMN ^1H que aparece en la Figura 35 se realizó una aproximación de DPn

Tabla 2. Cálculo de DPn PSI-b-PBA

PM _{promedio} de monómeros (g/mol)	Mn(SECPSI-b-PBA) (g/mol)	DPn
1393.79	38,702	27.76

En la siguiente imagen se aprecia la estructura que debería presentar dicho copolímero.

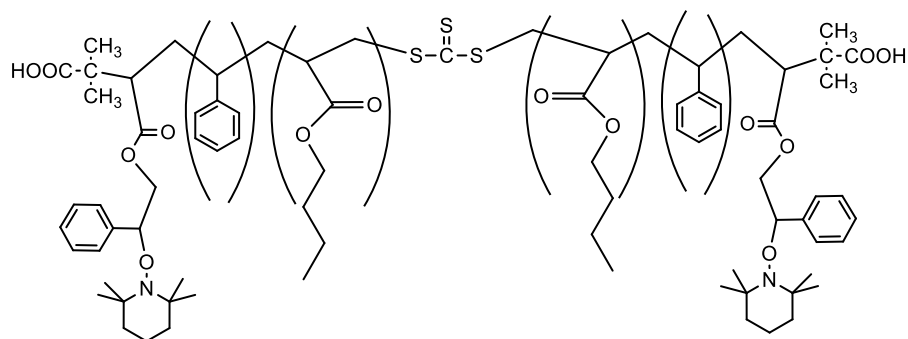


Figura 36 Estructura del copolímero PS-r-EAFT-b-PBA-b-PS-r-EAFT

En este punto se puede observar que EAFT se ha incorporado satisfactoriamente a PSI y posteriormente éste queda agregado al copolímero en bloques con PBA, sin embargo, considerando que la aplicación que se pretende tenga esta molécula sea la generación de copolímeros con arquitectura de cepillo buscando que sean aplicables a la medicina regenerativa mediante la fabricación de andamiajes requeridos en dicho campo, se procedió a incrementar el número de grupos colgantes alcoxiamina en un copolímero en bloques de este tipo.

Copolimerización nBA/ EAFT

Otra alternativa usada para estudiar la capacidad de polimerización de EAFT, fue copolimerizarlo con el nBA. En este caso se buscó incrementar la concentración de EAFT en el copolímero resultante con la intención de incrementar los sitios de alcoxiaminas y obtener con ello un mayor número de puntos para realizar injertos en la búsqueda de polímeros con arquitectura de peine.⁵⁵

La polimerización se realizó de acuerdo a lo descrito en el capítulo 2, en este caso se utilizó la relación molar 176/1/0.8 durante 1 hora con una temperatura de 65 °C.

Al concluir el tiempo indicado de reacción el copolímero resultante se aisló y secó

durante 24 horas, al concluir el secado se analizó por SEC. Los resultados arrojados por el análisis por SEC (Figura 37) indicaron un peso molecular en número $M_n = 13,211$ g/mol y $\bar{D} = 1.41$.

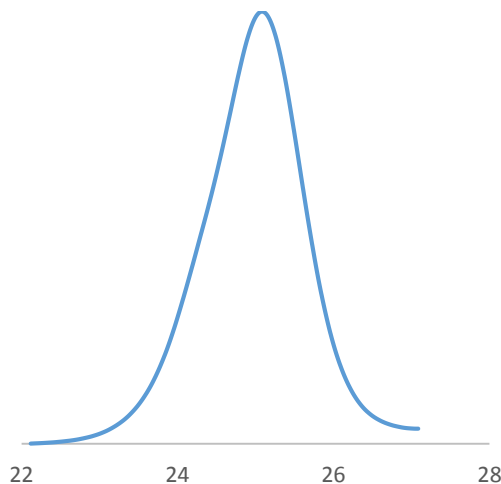


Figura 37 Cromatograma PBA-r-EAFT (PBAI)

Posterior a esto se analizó el copolímero mediante la técnica RMN para verificar el éxito en la copolimerización, lo cual pudo constatare como se aprecia en el siguiente espectro de RMN 1H de la muestra denominada PBAI.

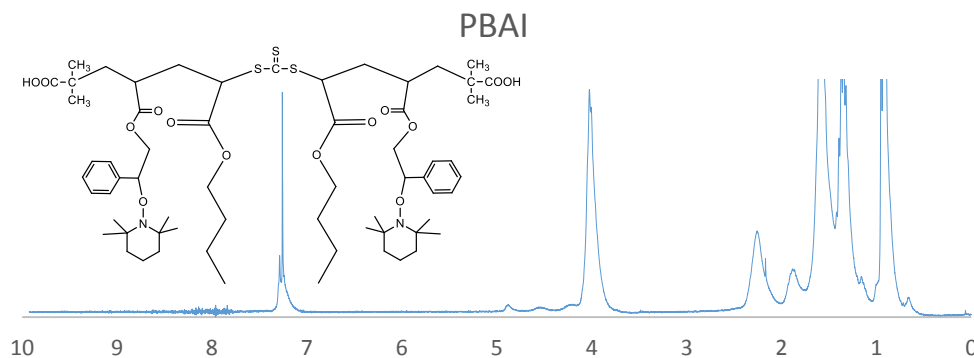


Figura 38 Espectro RMN 1H del copolímero PBA-r-EAFT

En el espectro de la Figura 38 se aprecian claramente las señales de los fragmentos de EAFT en la región de $\delta = 4.8$ ppm correspondientes a las señales para el

grupo metino y en 4.5 ppm, señales que pertenecen al grupo metileno. En $\delta = 7.2$ ppm se observan las señales correspondientes a los protones del grupo fenil. Se observan también las señales pertenecientes al poliacrilato de butilo. Se observa una señal en $\delta = 4.02$ ppm que se asigna al protón del grupo metileno desplazado por el átomo de oxígeno,⁵⁶ en la región de $\delta = 1.8-2.3$ ppm encontramos las señales correspondientes a los grupos metilenos del acrilato de butilo,⁵⁶ en la región de $\delta = 0.8-0.89$ ppm encontramos la resonancia de los grupos metilos mientras que en la región de $\delta = 0.6$ ppm encontramos los protones de la alcoxiamina.⁴⁹

El análisis RMN indicó que EAFT se incorporó en aproximadamente 9.26%mol por lo que la composición de BA fue de 90.74%, con estas composiciones se determinó un peso molecular promedio de los comonómeros y con ello se obtuvo un valor de DPn.

Tabla 3 Cálculo de DPn PBAI

PM _{promedio de monómeros} (g/mol)	Mn _(SEC PSI-b-PBA) (g/mol)	DPn
146.98	13211	89.87

Extensión RAFT con NIPAM empleando PBAI como macroagente

Tras haber realizado la copolimerización anterior se realizó una extensión de cadena utilizando NIPAM, para esto se utilizó una relación masa NIPAM/PBAI = 4.6, se colocó en baño de aceite a 65 °C durante 4.5h tal y como se detalla en la sección metodología

Tras el tiempo de reacción el copolímero se aisló y se secó durante 24 horas para posteriormente analizarse mediante distintas técnicas.

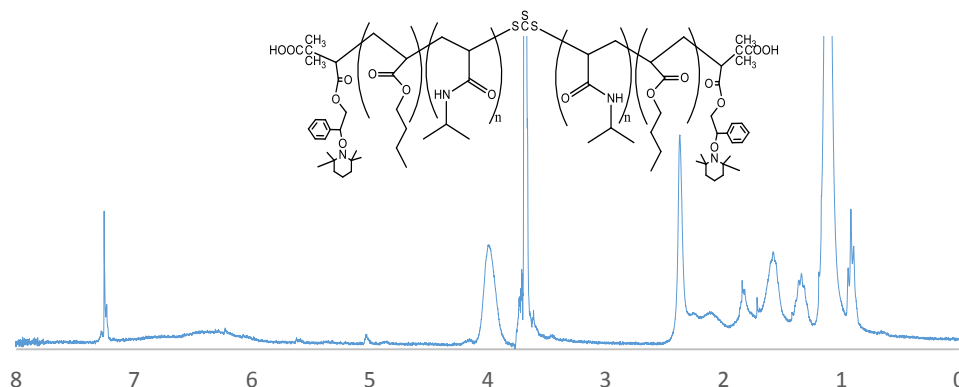


Figura 39 Espectro RMN 1H del copolímero PBA-r-EAFT-b-PNIPAM-b-PBA-r-EAFT

En el espectro de RMN ^1H (Figura 39) obtenido de esta muestra, se observan señales que muestran la incorporación de PNIPAM al copolímero. En la región de $\delta=5.99\text{-}6.6$ ppm se observa una señal que podemos asignar al protón unido al átomo de nitrógeno⁵⁷ característico en el PNIPAM.

En este caso la composición fue difícil de determinar ya que las señales de PBA y PNIPAM se superponen unas con otras, volviendo difícil cuantificar la composición que tienen en el copolímero. Sabemos que en $\delta=4$ ppm tanto el PBA como el PNIPAM presentan desplazamientos característicos, así que si consideramos el espectro RMN ^1H mostrado en la Figura 40 sería difícil tomar esa señal para determinar composición.

Podemos suponer que en $\delta = 4$ ppm se encuentra el desplazamiento característico del PNIPAM y que en la región de $\delta = 3.67$ ppm se asigna la señal característica del PBA, con esa consideración la composición sería 55% mol PBAI y 45% mol PNIPAM.

En la Figura 40 se presenta la estructura que este copolímero podría presentar.

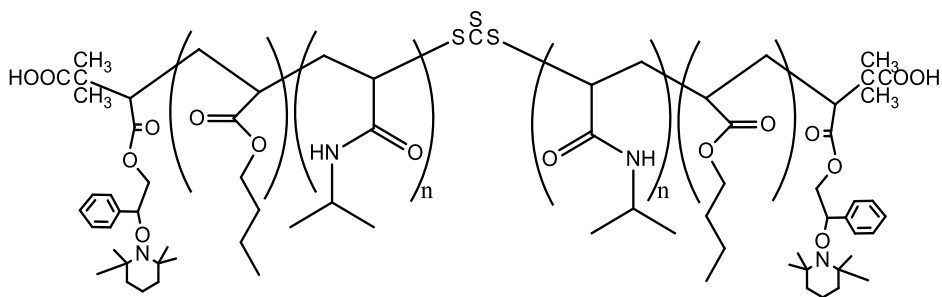


Figura 40 Estructura del copolímero (PBA-r-EAFT)-b-PNIPAM-b-(PBA-r-EAFT)

Los resultados del análisis por cromatografía por exclusión de tamaños indicaron un incremento en el peso molecular en número M_n pasando de 13,200 g/mol a 40,544 g/mol mientras que el índice de dispersidad \bar{D} aumentó de 1.41 a 1.64.

Comparación PBAI-b-PNIPAM

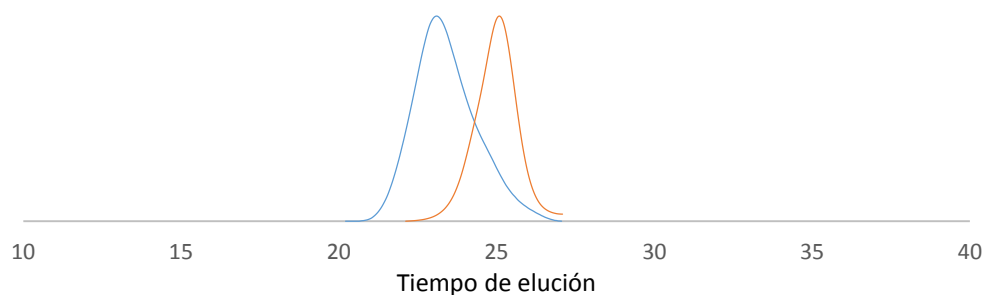


Figura 41 Comparación de cromatogramas PBA-r-EAFT en naranja vs PBA-r-EAFT-b-PNIPAM-b-PBA-r-EAFT en azul.

En el cromatograma mostrado en la figura 41 podemos observar el desplazamiento de la curva a la izquierda lo que nos indica un claro incremento en el peso molecular del copolímero.

Después de haber realizado las copolimerizaciones mediante el uso de agentes RAFT y el aprovechamiento del enlace vinílico realizamos polimerizaciones para utilizar la alcoxiamina soportada por el inimer.

3.4 Copolimerización NMP

Al tener los macroagentes RAFT/NMP reportados en la sección anterior, se continuó con reacciones de injertos vía NMP.

Copolimerización de PBA-r-EAFT con estireno vía NMP

Se utilizó al macroagente PBAI y monómero estireno para comprobar el funcionamiento de la alcoxiamina que EAFT proporcionó al copolímero PBAI.

La reacción se desarrolló de acuerdo a lo detallado en la sección de metodología, con una relación masa St/PBAI = 5.55 utilizando una temperatura de 125 °C, durante 3 horas.

A continuación se muestra el espectro obtenido por resonancia magnética de protón.

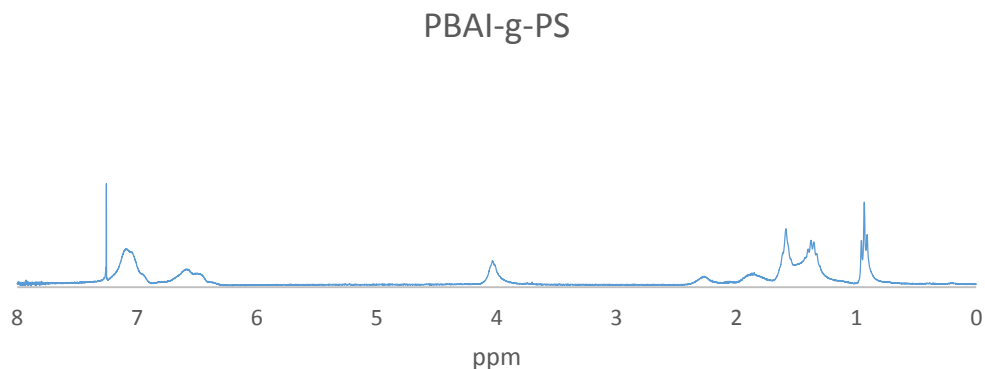


Figura 42 Espectro RMN 1H del copolímero (PBA-r-EAFT-b-PS-PBA-r-EAFT)-g-PS 125 °C

En el espectro anterior (Figura 42) podemos ver las señales correspondientes al estireno que fue incorporado al copolímero PBAI.

En la región de $\delta = 6.3-7.2$ ppm encontramos las señales características de los protones aromáticos del poliestireno⁵⁸ mientras que en $\delta = 4$ ppm se aprecia la señal característica de los metilenos del polibutilacrilato.⁵⁶

El análisis del espectro obtenido arrojó una composición de 10% mol de copolímero PBAI y 90% mol de poliestireno.

El análisis realizado por cromatografía de exclusión de tamaños mostró un incremento del peso molecular, que pasó de un $M_n = 13,200$ g/mol a $M_n = 111,403$ g/mol y un índice de dispersidad de $\bar{D} = 2.23$

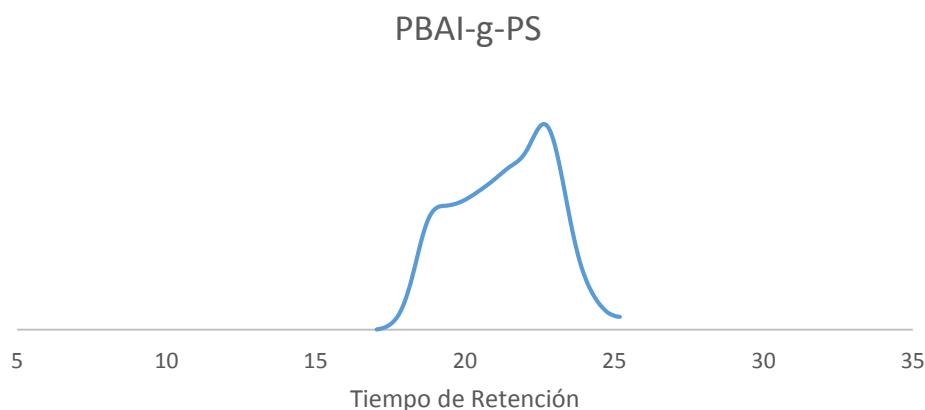


Figura 43 Cromatograma de copolímero (PBA-r-EAFT-b(-PS-)b-PBA-rEAFT)-g-PS por activación de alcoxiamina a 125 °C

Al ver el cromatograma anterior salta a la vista que la reacción se salió de control, debido probablemente a las interferencias entre la NMP y la polimerización RAFT que inicia debido a la presencia de los radicales producidos térmicamente por el monómero y a los macroradicales que de ahí se derivan. Es decir, es muy probable que hayan existido reacciones de acoplamiento entre macroradicales. Lo que llevó a la pérdida del control.

Esta reacción nos muestra el éxito obtenido por la incorporación de EAFT, al estar en el copolímero PBAI los grupos alcoxiamina sirven de sitio de injerto por lo que es posible generar arquitecturas tipo peine.

En la siguiente página se ubica la Figura 44 en dónde se comparan los cromatogramas del copolímero precursor y el copolímero generado vía NMP.

Comparación PBAI vs PBAI-g-PS

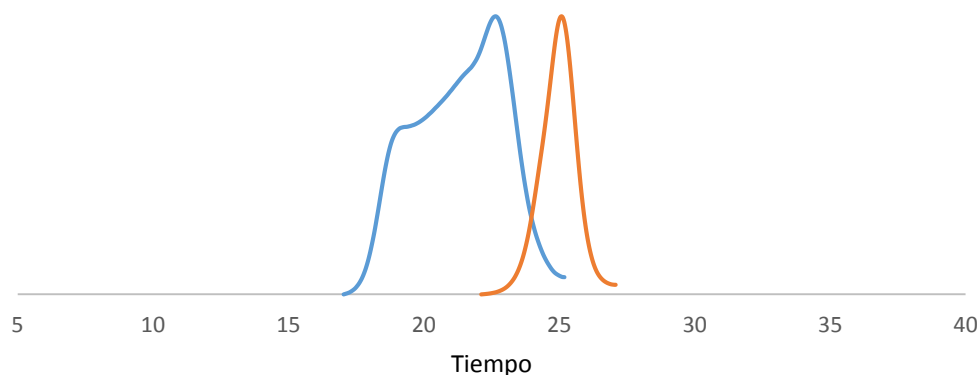


Figura 44 Comparación de cromatogramas PBAI vs PBAI-g-PS

Aunque esta prueba presenta resultados pobres desde una perspectiva de control de la polimerización, debe notarse el funcionamiento que tuvo el macroagente dual RAFT/NMP para copolimerizar vía tándem.

Debemos recordar que el copolímero presenta carácter viviente, para probar esto se decidió agregar estireno para probar el carácter viviente de este copolímero mediante la adición de estireno.

Adición de estireno a (PBA-r-EAFT-b(-PS-)b-PBA-r-EAFT)-g-PS

Al tener evidencia del funcionamiento de EAFT se procedió a realizar una prueba para corroborar que el resultado de este trabajo es la generación de copolímeros que pueden funcionar como macroagentes duales.

Se decidió realizar otra polimerización a 125 °C tal como se reporta en la sección de metodología y se obtuvo el cromatograma que se presenta en la Figura 45.

Prueba de Copolímero Viviente

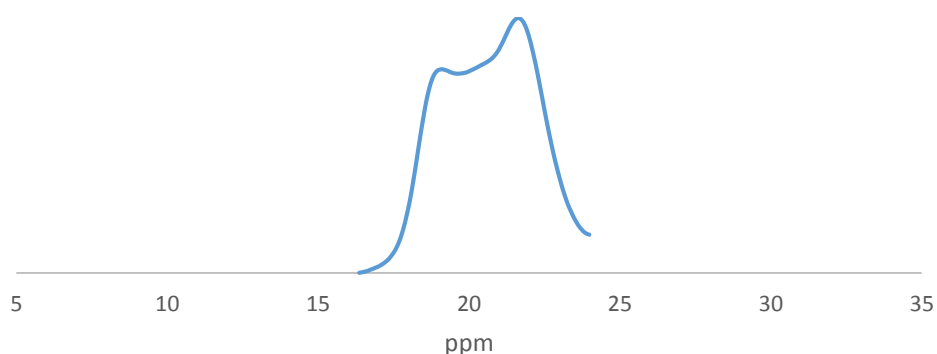


Figura 45 Extensión vía NMP de PBAI-g-PS

El análisis de SEC mostró un incremento de peso molecular y una disminución del índice de dispersidad, se obtuvo un índice de dispersidad $\mathcal{D} = 1.85$ y un $M_n = 191,100$ g/mol.

A continuación se muestran las comparaciones de los cromatogramas.

Prueba Copolímero Viviente

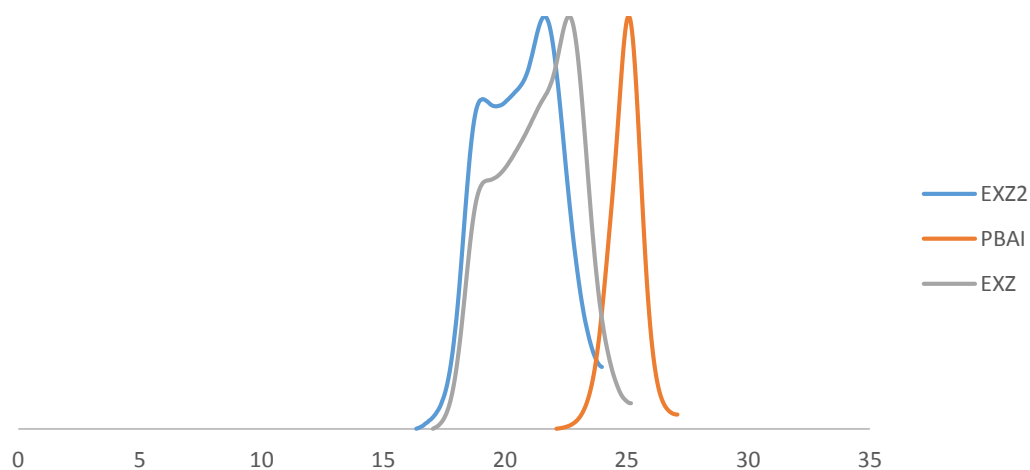


Figura 46 Comparación de cromatogramas de uso de Macroagente dual RAFT/NMP

En el cromatograma mostrado en la Figura 46 la curva en color naranja representa al macroagente dual PBAI que es el producto de la primera copolimerización, recordemos que en esa primera copolimerización se tuvo un $M_n = 13200$ g/mol y se registró $\mathcal{D} = 1.44$, esta reacción entre el nBA/EAFt la podemos comparar con

datos reportados en 2004 en donde se reporta una polimerización de nBA empleando una alcoxiamina⁵⁹ y llegan a reportar un $M_n = 11700$ y $\mathcal{D} = 1.56$, al observar esta información vemos que el índice de dispersidad reportado en este trabajo es más estrecho que el reportado en 2004, se debe mencionar que una diferencia en los procesos es que en este trabajo la copolimerización se realizó vía RAFT mientras que en la publicación consultada se trata de una homopolimerización mediada por nitróxidos.

La curva en gris (Figura 46) representa la primera polimerización NMP a 125 °C, se aprecia claramente el desplazamiento hacia pesos moleculares más elevados, lo que en principio es buena señal, no obstante salta a la vista la asimetría de la curva que nos hace suponer que la alcoxiamina presente en el macroagente PBAI no funcionó de forma adecuada perdiendo el control sobre la reacción que se llevó a cabo, sin embargo, en la curva azul se presenta la segunda polimerización NMP a 125 °C la cual fue realizada para verificar que el copolímero presentaba característica viviente e incrementar el M_n lo cual, como se aprecia en la Figura 46, pudo constatararse.

Debe mencionarse que los resultados en cuanto a control en esta reacción son pobres, es posible que esta falla pueda corregirse al incrementar el número de alcoxiaminas en la cadena principal

Capítulo 4 Conclusiones y Perspectivas

La generación de copolímeros de arquitectura compleja con aplicaciones de alta especialidad como lo es el campo biomédico representan una gran oportunidad viable para las técnicas de polimerización controlada.

En este trabajo se logró la síntesis de un NMPinimer (EAFT) y una exitosa incorporación con otros monómeros para formar macroagentes duales que pueden polimerizar siguiendo un mecanismo RAFT o reaccionar de forma conjunta (Tandem) con un mecanismo NMP.

En las actividades desarrolladas fue posible generar copolímeros usando una alcoxiamina polimerizable sintetizada para esos fines, lo que nos muestra la capacidad de polimerización para el EAFT.

Se tuvo dificultades para controlar la distribución de pesos moleculares, sin embargo, se consiguió generar un macroagente dual que puede emplearse para generar copolímeros en bloque con carácter viviente con distintos monómeros y realizar reacciones vía NMP para obtener estructuras tipo peine, las cuales no tuvieron el éxito esperado, sin embargo, es probable que al incrementar el número de alcoxiaminas en la cadena principal se logre un mayor control para generar las estructuras que se pretenden.

Los copolímeros obtenidos vía RAFT entre EAFT y distintos comonómeros son una excelente aproximación a lo que representa un proyecto futuro, deja abierta la posibilidad de mejorar el control a través de otros monómeros y su adecuada relación molar así como incrementar la densidad de injertos y obtener estructuras que puedan ser evaluadas para posibles bioaplicaciones documentadas en este trabajo.

En este trabajo futuro se deberá incluir la mayor exactitud posible en la ubicación del EAFT en la cadena principal, para lo cual deben considerarse estudios de reactividad respecto a otros monómeros, al ser el campo de los agentes duales una nueva tendencia, los estudios cinéticos son escasos por lo que deben ser realizados por cada grupo de investigación para lograr las condiciones adecuadas de polimerización.

El campo al que se pretende llevar el EAFT, y otros inimers que pudieran ser

sintetizados posteriormente, es un campo multidisciplinario, por lo que más allá de solo establecer las condiciones óptimas de polimerización para generar estructuras tipo peine, debe involucrarse un estudio de biocompatibilidad de los posibles materiales que puedan utilizarse, además de las evaluaciones que deben realizarse cuándo se cuente ya con el copolímero final.

Glosario

Anfifílico: Característica que refiere a moléculas con una sección soluble en agua y otra parte insoluble.

ATRP: Polimerización por transferencia de átomo.

CRP: Polimerización radicalica controlada.

CTA: Agente de transferencia de cadena (empleado en polimerizaciones RAFT).

Fermer: Monómero con agente de transferencia.

Ingeniería de tejidos: campo interdisciplinario dedicado a la regeneración de tejidos humanos funcionales.

Inifer: Iniciador y agente de transferencia.

Inimer: Monómero iniciador.

NMP: Polimerización mediada por nitróxidos.

Polisacáridos: Moléculas formadas por la unión de azúcares.

Proteoglicanos: Macromoléculas formadas por una proteína central a lo largo de la cual se asocian moléculas de glicosaminoglicanos, dando lugar a un estructura tipo peine.

RAFT: Polimerización por adición, fragmentación y transferencia reversible.

SEC: Cromatografía por exclusión de tamaño.

Tempo: Abreviación de 2,2,6,6,-Tetrametilpiperidin-1-iloxi (empleado en polimerizaciones NMP).

Referencias

1. Braunecker, W. A. et al. Controlled/living radical polymerization: Features, developments, and perspectives. *Prog. Polym. Sci.* **32**, 93–146 (2007).
2. Mishra, V. & Kumar, R. LIVING RADICAL POLYMERIZATION : A REVIEW. *J. Cient. Res.* **56**, 141–176 (2012).
3. Shipp, D. a. Reversible-Deactivation Radical Polymerizations. *Polym. Rev.* **51**, 99–103 (2011).
4. Matyjaszewski, K. & Xia, J. Atom Transfer Radical Polymerization. *Chem. Rev.* **101**, 2921–2990 (2001).
5. Nicolas, J. et al. Nitroxide-mediated polymerization. *Prog. Polym. Sci.* **38**, 63–235 (2013).
6. Moad, G., Rizzardo, E. & Thang, S. H. Living radical polymerization by the RAFT process a third update. *Aust. J. Chem.* **65**, 985–1076 (2012).
7. Moad, G., Rizzardo, E. & Thang, S. H. Toward living radical polymerization. *Acc. Chem. Res.* **41**, 1133–42 (2008).
8. Solomon, D. H. Genesis of the CSIRO polymer group and the discovery and significance of nitroxide-mediated living radical polymerization. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **43**, 5748–5764 (2005).
9. P, G. R., Kazmaier, P. M. & Gordon, K. K . p . *Macromolecules* **26**, 2987–2988 (1993).
10. Grubbs, R. B. Nitroxide-Mediated Radical Polymerization: Limitations and Versatility. *Polym. Rev.* **51**, 104–137 (2011).
11. Studer, A. & Schulte, T. Nitroxide-mediated radical processes. *Chem. Rec.* **5**, 27–35 (2005).
12. Chiefari, J. et al. Living Free-Radical Polymerization by Reversible Addition - Fragmentation Chain Transfer : The RAFT Process. *Macromolecules* **31**, 5559–5562 (1998).
13. Barner-kowollik, C. The Future of Reversible Addition Fragmentation. **46**, 5715–5723 (2008).
14. Otsu, T. Iniferter concept and living radical polymerization. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **38**, 2121–2136 (2000).

15. Hawker, C. & Frechet, J. Preparation of hyperbranched and star polymers by a “living”, self-condensing free radical polymerization. *J. Am. Chem. Soc.* **117**, 10763–10764 (1995).
16. Qiang, R. *et al.* Preparation of hyperbranched copolymers of maleimide inimer and styrene by ATRP. *Polymer*. **47**, 3382–3389 (2006).
17. Ma, P., Nie, H., Zhou, Q., Li, Y. & Liu, H. One-pot radical polymerization of one inimer to form one-dimensional polymeric nanomaterials. *Adv. Mater.* **24**, 6234–9 (2012).
18. Wei, Z., Hao, X., Kambouris, P. a., Gan, Z. & Hughes, T. C. One-pot synthesis of hyperbranched polymers using small molecule and macro RAFT inimers. *Polymer*. **53**, 1429–1436 (2012).
19. Zhang, K. *et al.* Chain Walking Ethylene Copolymerization with an ATRP Inimer for One-Pot Synthesis of Hyperbranched Polyethylenes Tethered with ATRP Initiating Sites. *Macromol. Rapid Commun.* **28**, 2185–2191 (2007).
20. Chen, J., He, J., Tao, Y., Li, C. & Yang, Y. Synthesis of thermosensitive gel by living free radical polymerization mediated by an alkoxyamine inimer. *Polymer*. **51**, 4769–4775 (2010).
21. Marcos, M. & Luis, J. Investigación Química Polímeros Dendrícos. **105**, 103–110 (2009).
22. Ishizu, K., Mori, a. & Shibuya, T. Synthesis of alternating hyperbranched copolymers using photofunctional inimer via living radical mechanism. *Polymer*. **42**, 7911–7914 (2001).
23. Wei, Z., Hao, X., Gan, Z. & Hughes, T. C. One-pot synthesis of hyperbranched glycopolymers by RAFT polymerization. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **50**, 2378–2388 (2012).
24. Bajpai, a. K., Shukla, S. K., Bhanu, S. & Kankane, S. Responsive polymers in controlled drug delivery. *Prog. Polym. Sci.* **33**, 1088–1118 (2008).
25. Kim, S., Kim, J.-H., Jeon, O., Kwon, I. C. & Park, K. Engineered polymers for advanced drug delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **71**, 420–30 (2009).
26. Cheng, R., Meng, F., Deng, C., Klok, H.-A. & Zhong, Z. Dual and multi-stimuli responsive polymeric nanoparticles for programmed site-specific drug delivery. *Biomaterials* **34**, 3647–57 (2013).
27. Jagur-grodzinski, J. Polymers for tissue engineering , medical devices , and regenerative medicine . Concise general review of recent studies. 395–418 (2006). doi:10.1002/pat

28. Zorlutuna, P. *et al.* Microfabricated biomaterials for engineering 3D tissues. *Adv. Mater.* **24**, 1782–804 (2012).
29. Mccullen, S. D., Ramaswamy, S., Clarke, L. I. & Gorga, R. E. Nanofibrous composites for tissue engineering applications. *John Wiley Sons* **1**, 369–390 (2009).
30. Ravichandran, R., Sundarajan, S., Venugopal, J. R., Mukherjee, S. & Ramakrishna, S. Advances in polymeric systems for tissue engineering and biomedical applications. *Macromol. Biosci.* **12**, 286–311 (2012).
31. Freitas, R. a. What is nanomedicine? *Nanomedicine* **1**, 2–9 (2005).
32. Loeve, S., Vincent, B. B. & Gazeau, F. Nanomedicine metaphors: From war to care. Emergence of an oecological approach. *Nano Today* **8**, 560–565 (2013).
33. Sekhon, B. S. & Kamboj, S. R. Inorganic nanomedicine--part 1. *Nanomedicine* **6**, 516–22 (2010).
34. Zhang, Y., Chan, H. F. & Leong, K. W. Advanced materials and processing for drug delivery: the past and the future. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **65**, 104–20 (2013).
35. Lee, E. J., Kasper, F. K. & Mikos, A. G. Biomaterials for tissue engineering. *Ann. Biomed. Eng.* **42**, 323–37 (2014).
36. Editor, S., Gefen, A. & Aviv, R. *Myocardial Tissue Engineering.* **6**,
37. Subramanian, A., Krishnan, U. M. & Sethuraman, S. Development of biomaterial scaffold for nerve tissue engineering: Biomaterial mediated neural regeneration. *J. Biomed. Sci.* **16**, 108 (2009).
38. Ghasemi-mobarakeh, L., Prabhakaran, M. P. & Morshed, M. Application of conductive polymers , scaffolds and electrical stimulation for nerve tissue engineering. (2011). doi:10.1002/term
39. Bhaarithy, V. *et al.* Biologically improved Nanofibrous scaffolds for Cardiac tissue engineering. *Mater. Sci. Eng. C* **44**, 268–277 (2014).
40. Mistry, A. S. & Mikos, A. G. Tissue Engineering Strategies for Bone Regeneration. 1–22 (2005). doi:10.1007/b99997
41. Coccia, M. Cartilage tissue engineering with chondrogenic cells versus artificial joint replacement: the insurgence of new technological paradigms. *Health Technol. (Berl).* **2**, 235–247 (2012).
42. Shearn, J. T. *et al.* Tendon tissue engineering: progress, challenges, and translation to the clinic. *J. Musculoskelet. Neuronal Interact.* **11**, 163–73 (2011).

43. García-carvajal, Z. Y. *et al.* Cartilage Tissue Engineering : The Role of Extracellular Matrix (ECM) and Novel Strategies.
44. Schindler, M. *et al.* Living in Three Dimensions. **45**, 215–227 (2006).
45. Burger, C., Hsiao, B. S. & Chu, B. Nanofibrous Materials and Their Applications. *Annu. Rev. Mater. Res.* **36**, 333–368 (2006).
46. Agarwal, S., Wendorff, J. H. & Greiner, A. Use of electrospinning technique for biomedical applications. *Polymer.* **49**, 5603–5621 (2008).
47. Bhardwaj, N. & Kundu, S. C. Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnol. Adv.* **28**, 325–47 (2010).
48. Rogina, A. Electrospinning process: Versatile preparation method for biodegradable and natural polymers and biocomposite systems applied in tissue engineering and drug delivery. *Appl. Surf. Sci.* **296**, 221–230 (2014).
49. Kobatake, S., Harwood, H. J., Quirk, R. P. & Priddy, D. B. Initiated by an Oxoaminium Chloride. 2555–2561 (1998).
50. Ooi, T., Sugimoto, H., Doda, K. & Maruoka, K. Esterification of carboxylic acids catalyzed by in situ generated tetraalkylammonium fluorides. *Tetrahedron Lett.* **42**, 9245–9248 (2001).
51. Lutz, J.-F. Polymerization of oligo(ethylene glycol) (meth)acrylates: Toward new generations of smart biocompatible materials. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **46**, 3459–3470 (2008).
52. St. Thomas, C. *et al.* Synthesis of NMP/RAFT inifers and preparation of block copolymers. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **50**, 2944–2956 (2012).
53. Lai, J. T., Filla, D. & Shea, R. Functional Polymers from Novel Carboxyl-Terminated Trithiocarbonates as Highly Efficient RAFT Agents. 6754–6756 (2002).
54. Schmid, C., Weidner, S., Falkenhagen, J. & Barner-kowollik, C. In-Depth LCCC-(GELC)-SEC Characterization of ABA Block Copolymers Generated by a Mechanistic Switch from RAFT to ROP. *Macromolecules* **45**, 89–89 (2012).
55. Azzaroni, O. Polymer brushes here, there, and everywhere: Recent advances in their practical applications and emerging opportunities in multiple research fields. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **50**, 3225–3258 (2012).
56. Brar, a. ., Pradhan, D. . & Hooda, S. Reactivity ratios and sequence determination of methacrylonitrile/butyl acrylate copolymers by NMR spectroscopy. *J. Mol. Struct.* **699**, 39–45 (2004).

57. Ifuku, S., Miwa, T., Morimoto, M. & Saimoto, H. Thermoresponsive chitosan/N-isopropylacrylamide copolymer through atom transfer radical polymerization. *Int. J. Biol. Macromol.* **52**, 14–9 (2013).
58. Bevington, J. C. & Huckerby, T. N. Studies of end-groups in polystyrene using ¹H NMR. *Eur. Polym. J.* **42**, 1433–1436 (2006).
59. Georges, M. K., Lukkarila, J. L. & Szkurhan, A. R. TEMPO-Mediated n -Butyl Acrylate Polymerizations. 1297–1303 (2004).