



**FORMACIÓN DE HIDROGELES MOLECULARES POR
MOLÉCULAS ANFIFÍLICAS DERIVADAS DE L-VALINA
CON UNIDADES TERMINALES DE PIRIDINA**

**Escuela Superior de Ciencia y Tecnología
Experimentales**

Máster en Química Aplicada y Farmacológica
Trabajo Final de Máster

Autor: Juan Luis Vega Pla

Tutor: Juan Felipe Miravet Celades

Castelló de la Plana, julio 2022

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer a Juan y a César por haberme ayudado desde el primer momento y haberme integrado con el grupo, ha sido un verdadero gusto trabajar en un ambiente tan sano. Me gustaría hacer mención especial a Ana y Víctor por haberme ayudado cuando ellos estaban hasta arriba de trabajo y por poner tan buena música en el laboratorio.

Agradecer también a todos mis compañeros de clase por las risas y los buenos momentos, especialmente a Lidón y Marc por todos los cafés a las 9:15 en el Sentits, las excursiones, las comidas, los partidos de ping-pong y los viajes en Cabify. Gracias a vosotros ha sido mucho más ameno pasar tantas horas en la universidad y me llevo dos buenos amigos de esta experiencia.

Por último, quiero agradecer a mis padres y a mis hermanas que, aunque están muy lejos, han estado apoyándome y soportando todas mis quejas. Gracias a ellos hoy soy la persona que soy.

ÍNDICE

ABREVIACIONES.....	- 7 -
INTRODUCCIÓN.....	- 9 -
Gelificantes de bajo peso molecular.....	- 9 -
Clasificación de los geles supramoleculares.....	- 11 -
Procesos de ensamblaje de geles.....	- 13 -
Calentamiento y enfriamiento.....	- 13 -
Cambio de pH.....	- 13 -
Aplicaciones de los geles supramoleculares.....	- 15 -
Liberación de fármacos.....	- 15 -
Ingeniería de tejidos.....	- 16 -
Técnicas de caracterización de los geles.....	- 17 -
Antecedentes del grupo.....	- 19 -
OBJETIVOS.....	- 21 -
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	- 23 -
Síntesis.....	- 23 -
Caracterización de los productos finales.....	- 25 -
Ensayos de gelación.....	- 27 -
Estabilidad térmica de los geles.....	- 30 -
Potenciometría.....	- 31 -
Ensayos de reología.....	- 33 -
SECCIÓN EXPERIMENTAL.....	- 35 -
SÍNTESIS.....	- 35 -
Síntesis de ZvalOSu a partir de ZValOH.....	- 35 -
Síntesis de ZValC4 a partir de ZValOSu.....	- 36 -
Síntesis de HValC4 a partir de ZValC4.....	- 37 -
Síntesis de SucValC4 a partir de HValC4.....	- 38 -
Síntesis de P4SucValC4 a partir de SucValC4.....	- 39 -
Síntesis de ZValC8 a partir de ZValOSu.....	- 40 -
Síntesis de HValC8 a partir de ZValC8.....	- 41 -
Síntesis de SucValC8 a partir de HValC8.....	- 41 -
Síntesis de P4SucValC8 a partir de SucValC8.....	- 41 -
Formación de geles.....	- 42 -
Por cambio de temperatura.....	- 42 -
Por cambio de pH.....	- 43 -

CONCLUSIÓN	- 45 -
BIBLIOGRAFÍA	- 47 -
ANEXOS.....	- 49 -

ABREVIACIONES.

c.m.g.: Concentración mínima de gelación

THF: Tetrahidrofurano

RMN: Resonancia Magnética Nuclear

K_a: Constante de acidez

LMWG: Gelificante de bajo peso molecular

TBTU: Tetrafluoroborato de (O-(1H-benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio

DIPEA: N,N-diisopropiletilamina

DMF: N,N-dimetilformamida

DMSO-d₆: Dimetilsulfóxido deuterado

COSY: Espectroscopía de correlación

HSQC: Espectroscopía de coherencia cuántica simple heteronuclear

INTRODUCCIÓN

Los geles son materiales formados por la agregación de partículas coloidales, moléculas pequeñas o cadenas poliméricas que, en presencia de un determinado disolvente, dan estructuras tridimensionales en forma de red. Estos compuestos presentan aplicaciones muy variadas, las más destacables son las biomédicas tales como la administración de fármacos, biosensores o ingeniería de tejidos, pero existen otras muchas como son la síntesis de productos de cuidado personal, biomateriales, revestimientos y fertilizantes entre otros. ^{1,2}

Existen diferentes tipos de geles en función de las características a analizar: en función del disolvente los geles se dividen en hidrogeles si este es agua, organogeles si es de tipo orgánico e ionogeles si es iónico, mientras que si se estudia la composición y el mecanismo de formación se conocen geles macromoleculares y supramoleculares. ¹

Los geles macromoleculares pueden presentar entrecruzamiento de las macromoléculas integrantes del mismo de tipo físico, no covalente, o químico. En este último caso, los enlaces covalentes cruzados de polímeros se pueden formar durante la polimerización o por medio de reacciones químicas sobre el polímero ya formado. Por otro lado, los denominados geles supramoleculares se forman por interacciones no covalentes entre moléculas de bajo peso molecular y entre sus características destacan una estructura bien definida, fácil modificación química, concentración mínima de gelación baja y reversibilidad del gel frente a estímulos externos; estas características les confieren ciertas ventajas frente a los geles macromoleculares en cuanto a aplicaciones biomédicas y por ello van a ser nuestro objeto de estudio en este TFM.²

Gelificantes de bajo peso molecular

Los geles supramoleculares están formados por un agente gelificante de peso menor a 3000 g/mol. La interacción entre sus moléculas genera agregados que dan lugar a una estructura tridimensional que encierra al disolvente en su interior mediante tensión superficial y fuerzas capilares. ¹⁻³ Primero, las moléculas del gelificante interaccionan en una dimensión generando habitualmente fibras, pero también pueden dar cintas, láminas, u otras estructuras bidimensionales; las interacciones que se suelen dar son de enlace de hidrógeno, Van der Waals y π - π stacking y van a depender tanto de la estructura química del gelificante como del disolvente utilizado. No obstante, este proceso también va a

depender de la solubilidad del gelificante en el disolvente elegido ya que cuanto mayor sea, más posibilidad de que las moléculas se agreguen.³

Una vez formada la estructura bidimensional, esta se tiene que entrecruzar para dar la red tridimensional; esta etapa es clave en el mecanismo de formación y viene determinada por el desajuste cristalino, diferenciándose de la cristalización tradicional en que aquí el crecimiento es mayoritariamente a lo largo de un solo eje.^{3,4}

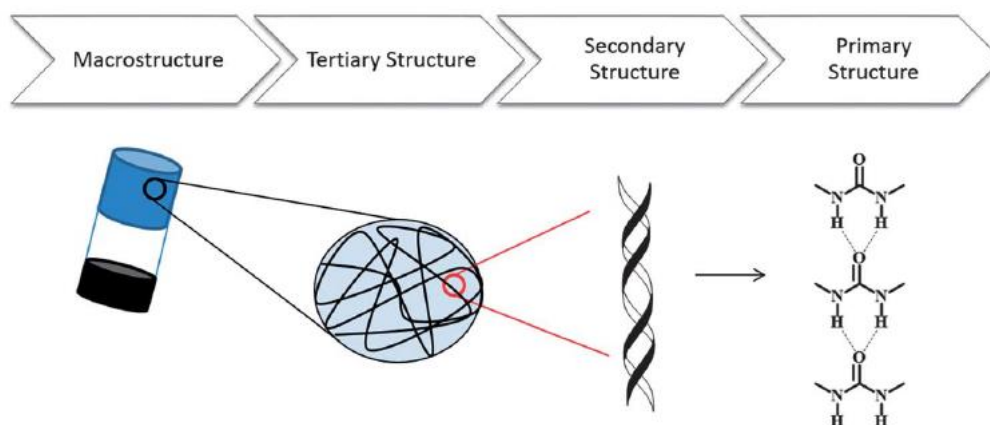


Figura 1 Proceso de formación de un gel.³

Un estudio de un gelificante típicamente incluye determinar propiedades como concentración mínima de gelación (c.m.g), temperatura de rotura del gel y propiedades ácido-base, si es el caso, entre otros. Estas propiedades van a dar idea de las características y de las aplicaciones de un determinado compuesto y deben de ser reproducibles para asegurar que su aplicabilidad sea eficiente, es por ello por lo que se realizan repetidos ensayos de cada parámetro estudiado.^{4,5}

Las propiedades del gelificante presentan relación con la estructura tridimensional del gel y por tanto con su mecanismo de autoensamblaje. En general, a mayor concentración del gelificante para unas mismas condiciones de pH y temperatura, la estructura estará más ensamblada. Sin embargo, si el pH se modifica podría formarse un gel a una c.m.g diferente y con una estructura distinta a la que se obtiene por otro método. El método de formación de un gel va a determinar cuáles serán sus propiedades y en consecuencia las aplicaciones que presentará.³⁻⁵

Una vez conocidos todos los parámetros, estos se pueden potenciar realizando pequeñas modificaciones químicas sobre la molécula del gelificante. Es aquí donde se observa una característica peculiar de estos materiales, ya que al realizar pequeñas modificaciones se pueden perder las propiedades gelificantes o aparecer en unas condiciones muy diferentes.

Esto se debe a que se ven involucrados muchos parámetros y es difícil que, al realizar una modificación para potenciar una determinada característica, no se produzca a su vez un cambio que resulte negativo en la formación de la estructura tridimensional. Por ejemplo, se puede cambiar un grupo funcional de la molécula patrón que permita una mayor interacción, pero esta puede producir a su vez una disminución de la solubilidad y una mayor dificultad de empaquetamiento, haciendo que una pequeña modificación marque una gran diferencia.³⁻⁵

Clasificación de los geles supramoleculares

El estudio de los geles a lo largo de los años ha hecho que se hayan estipulado una serie de patrones que indican cuando un compuesto va a tener la capacidad de formar un gel y cuando no. Actualmente no hay unas reglas que se cumplan en todos los casos, pero sí en la mayoría de ellos, como es el caso del carácter anfífilo que cobra mucha importancia cuando se quiere sintetizar un hidrogelificante.

Un anfífilo es una molécula que presenta una cabeza polar y una o varias colas apolares, la parte polar permite una mayor solubilidad en agua mientras que la parte apolar favorece la agregación de las moléculas; ambas características resultan vitales para la gelación y permiten clasificar los gelificantes en diferentes grupos:^{3,6}

- **Anfífilos convencionales:** La parte polar puede estar constituida por diferentes grupos funcionales como ácidos carboxílicos, aminas o fosfatos, aunque también pueden contener un azúcar o un aminoácido, mientras que la parte apolar consiste en una o varias cadenas hidrocarbonadas con flexibilidad y longitud variables. Un ejemplo de este tipo son los compuestos derivados del colesterol, ya que presentan una estructura basada en una cola flexible, un segmento rígido, un grupo espaciador y la cabeza flexible.^{3,6}

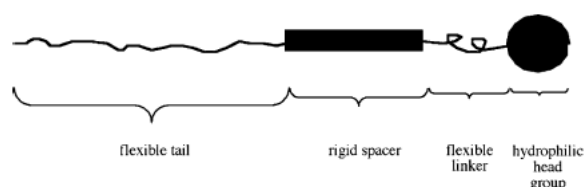


Figura 2 Estructura de una molécula anfifílica de tipo lipídica.^{3,6}

- **Bolaanfífilos:** Moléculas formadas por dos grupos hidrofílicos terminales, separados por una cadena hidrofóbica y que pueden dar lugar a micelas, vesículas o láminas.^{6,7}

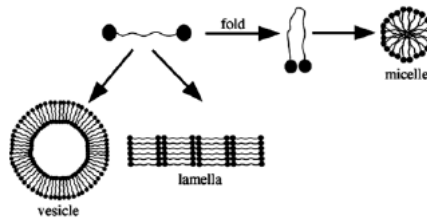


Figura 3 Estructuras de los bolaanfífilos. ⁶

- **Surfactantes tipo gémini:** Se trata de moléculas más complejas que están formadas por dos extremos flexibles unidos cada uno a un extremo cargado y ambas parejas separadas por una estructura rígida. Esta complejidad permite que el ensamblaje de las moléculas resulte en estructuras como túbulos y hélices. ⁶

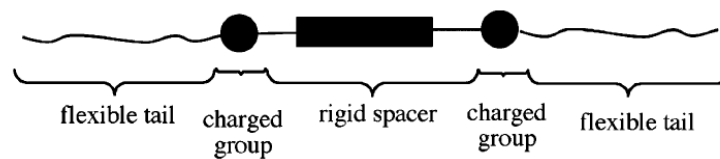


Figura 4 Estructura general de un tensoactivo Gemini. ⁶

- **Estructuras basadas en azúcares:** Se basan en un azúcar que favorece la solubilidad y un grupo aromático para favorecer la interacción π - π stacking. Se trata de compuestos de especial interés por la elevada biocompatibilidad de los azúcares.

3,6

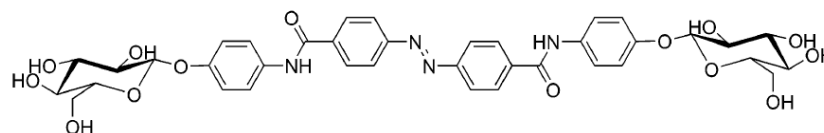


Figura 5 Ejemplo de una estructura basada en un azúcar. ⁶

Procesos de ensamblaje de geles.

El proceso de formación de un gel es importante ya que se relaciona directamente con las propiedades y aplicaciones de este. Se puede conseguir formar un gel variando su solubilidad en el medio mediante diferentes procesos como cambio de temperatura, cambio de pH, adición de activantes, activación por luz o uso de enzimas.^{4,8}

Calentamiento y enfriamiento.

Consiste en pesar una determinada cantidad de compuesto y añadirle el disolvente correspondiente. Habitualmente, el gelificante no se disuelve espontáneamente para formar el gel, sino que hay que facilitar el proceso. Para ello, se sónica con el fin de que el sólido quede bien suspendido en el disolvente y se calienta hasta disolución de este, en ese momento, se deja enfriar hasta observar la formación de un gel. Con este procedimiento es vital controlar la temperatura de calentamiento y enfriamiento, así como la duración de ambas ya que afecta directamente a la estructura y propiedades del gel. ⁴

Cambio de pH

Se basa en la diferencia de solubilidad de un compuesto a un determinado pH debido a su constante de acidez (K_a): una molécula estará ionizada a un determinado pH y no será capaz de autoensamblarse, por eso el objetivo es reducir el número de cargas para así favorecer la formación del gel. Este procedimiento se sigue cuando el gelificante presenta uno o varios grupos ionizables. ⁴⁻⁸

Se pesa una cantidad determinada del compuesto, se añade el disolvente, se sónica para conseguir una suspensión adecuada, se añaden unas gotas bien de ácido o de base en función de la solubilidad del gelificante y se agita en el vórtex. Una vez disuelto se realiza un cambio de pH bien añadiendo pequeños volúmenes de un ácido o una base, en función del caso o bien se introduce la muestra en atmósfera ácida o básica.^{4,9}

En el caso de moléculas peptídicas se estudian los valores de pKa: si se tiene un gelificante con un solo péptido ionizable, la formación del gel depende de si el pH se encuentra por encima o por debajo del pKa. Un ejemplo es el del péptido RATEA 16 ($\text{CH}_3\text{CONH-RATARAEARATARAECNH}_2$) ya que presenta varios aminoácidos ionizables. A pH neutro la arginina tiene carga positiva y el ácido glutámico carga negativa dando una interacción atractiva que favorece el ensamblaje además de una interacción hidrofóbica entre los residuos de alanina y treonina. A pH ácido y pH básico no se forman geles. ^{5,10}

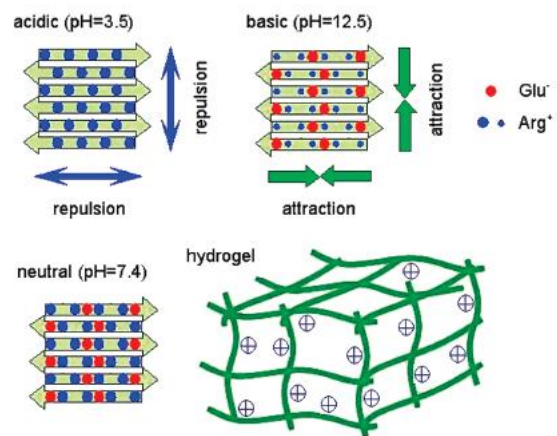


Figura 6 Interacciones del péptido RATEA 16 a diferente pH. ¹⁰

Aplicaciones de los geles supramoleculares

Liberación de fármacos

Los geles supramoleculares tienen especial interés en aplicaciones biomédicas: la reversibilidad de un gel permite cargarlo fácilmente de un fármaco y posteriormente liberarlo poco a poco en el organismo. En la figura 7 se muestra un esquema de algunas aplicaciones de interés: 4,5

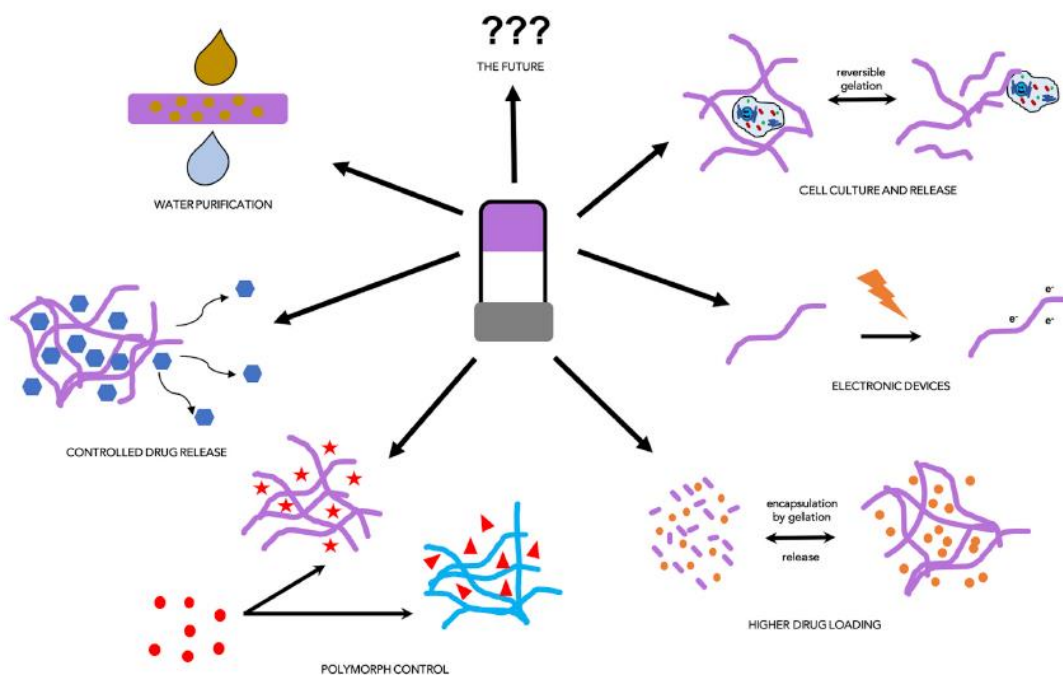


Figura 7 Diferentes aplicaciones de geles de bajo peso molecular (LWMG). 4

Su interés como transportadores de fármacos radica en su baja toxicidad y en su fácil biodegradabilidad, así como en la mejora de la biodisponibilidad, la solubilidad y el tiempo de vida media de un determinado fármaco. Estas características lo hacen preferido frente a otros transportadores de fármacos como liposomas, micelas o geles poliméricos. Además, es interesante conocer los mecanismos de liberación de los fármacos que se basan en tres estrategias tal y como se ilustran en la figura 8.¹¹

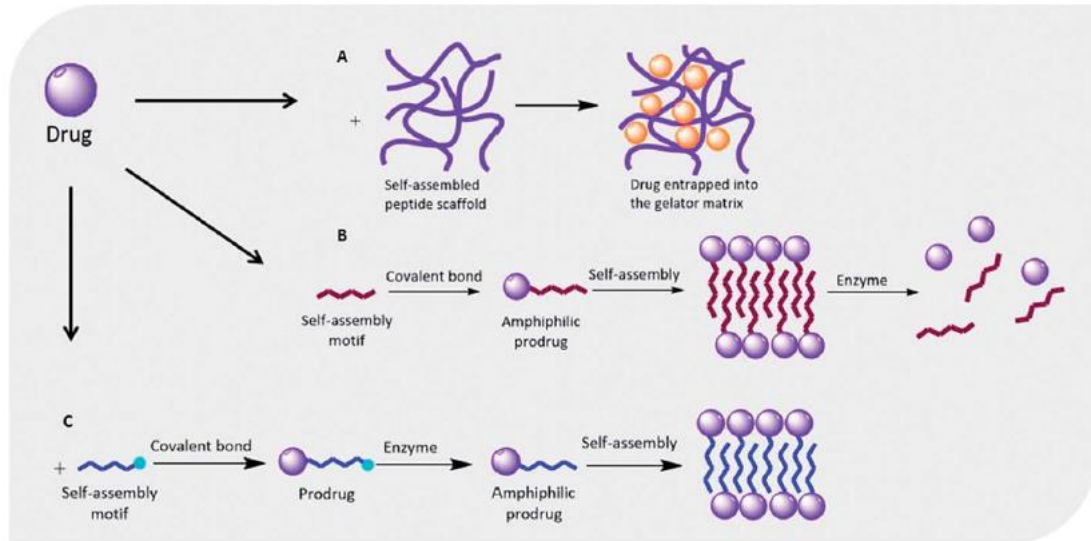


Figura 8 Estrategias de gelación y posterior liberación del fármaco. ¹¹

La estrategia A se basa en el atrapamiento del fármaco en una matriz inerte que lo va a liberar por difusión simple o durante el proceso de degradación del gel, la estrategia B consiste en hacer reaccionar el fármaco con un grupo funcional del enlazador para dar un profármaco con propiedades anfífilas que se va a autoensamblar para ser posteriormente degradado por enzimas, lo que permite una liberación controlada del fármaco. Por último, la estrategia C es similar a la B salvo porque el profármaco sufre escisión enzimática para autoensamblarse.

Ingeniería de tejidos

Los geles de bajo peso molecular no presentan una gran relevancia en la ingeniería de tejidos, solamente son destacables aquellos basados en péptidos ya que sus propiedades (biocompatibilidad y fácil manipulación) favorecen el cultivo celular sobre ellos. El primer ejemplo de interés fue la síntesis un hidrogel de polietilenglicol bioespecífico fotopolimerizado basado en un péptido de 5 aminoácidos (Tyr-Arg-Gly-Asp-Ser). A partir de ahí se comenzaron a estudiar geles no poliméricos y se comenzaron a desarrollar hidrogeles que no necesitaran de un soporte polimérico, como por ejemplo, un compuesto anfífilo basado en el pentapéptido (Ile-Lys-Val-Ala-Val)⁴ que permite la diferenciación celular. ¹¹

Técnicas de caracterización de los geles.

El proceso de formación de un gel está definido por el empaquetamiento de las moléculas hasta dar una estructura tridimensional en forma de red, el conocimiento de este proceso es vital a la hora de trabajar con un gel y es por eso que se han hecho uso de diferentes técnicas de caracterización para su estudio.⁴

En primer lugar, se estudia la estructura de la molécula gelificante y de los agregados mediante resonancia magnética nuclear (RMN) de protón y de carbono, técnicas de infrarrojo y de fluorescencia.^{4,12}

El siguiente paso es conocer la estructura de la fibra o la unidad bidimensional que constituye al gel, para ello se utiliza la microscopía electrónica.

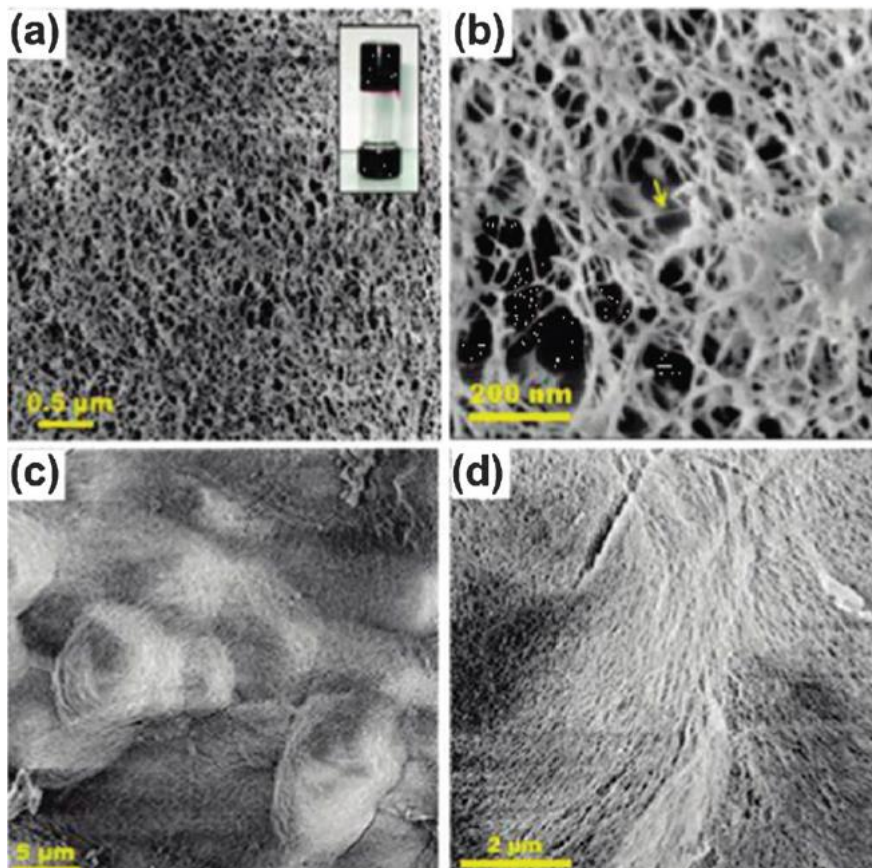


Figura 9 Imágenes de la estructura de un gel a diferentes escalas. ¹²

Un aspecto muy importante de estas estructuras son sus propiedades mecánicas ya que van a determinar de que se trate o no de un gel. El estudio de estas se realiza mediante ensayos de reología y consisten en aplicar presión sobre el material para ver como fluye y se deforma. Los ensayos consisten en medir el régimen viscoelástico lineal del gel en términos del módulo de almacenamiento (G' , elástico) que indica la resistencia y elasticidad del material y del módulo de pérdida (G'' , viscoso) que define si la estructura es capaz de reorganizarse y disipar la energía. Todo aquel material que presente un G' mayor a G'' va a ser un gel, además ambos módulos son independientes de la frecuencia hasta su rotura. ^{4,5}

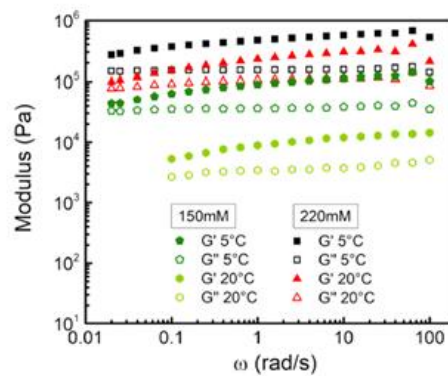


Figura 10 Variación del módulo elástico y viscoso de un gel peptídico a diferente temperatura y concentración. ⁵

Antecedentes del grupo

Este proyecto se ha desarrollado en el grupo de Nanomateriales Moleculares Orgánicos con Aplicaciones Biomédicas donde se han estudiado diferentes moléculas con capacidad para formar geles. Este proyecto supone una continuación dentro de la investigación realizada en la UJI sobre este tema durante los últimos años.

En 2012, se estudiaron en detalle moléculas derivadas de la L-valina y la L-isoleucina que dieron lugar a hidrogeles estables hasta 55°C. Algunas de las moléculas sintetizadas se muestran en la figura 11, donde se observa que se trata de geles bolaanfífilos.¹³

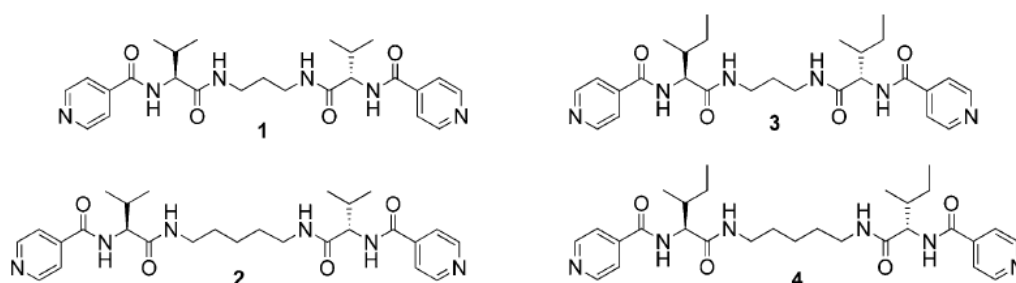


Figura 11 Moléculas sintetizadas anteriormente en la UJI.¹³

En 2016, se sintetizaron nuevas moléculas para la formación de hidrogeles por reacción de diferentes aminoácidos con anhídrido succínico, de esta manera se introdujo una unidad de ácido carboxílico para conseguir una sensibilidad al pH (figura 12).¹⁴ Se observó que el compuesto **4** era el único que no llegaba a formar geles, esto pone de manifiesto la importancia de que un gelificante presente una parte hidrofóbica lo suficientemente grande para generar interacciones de Van der Waals con otras moléculas y así se ensamble.

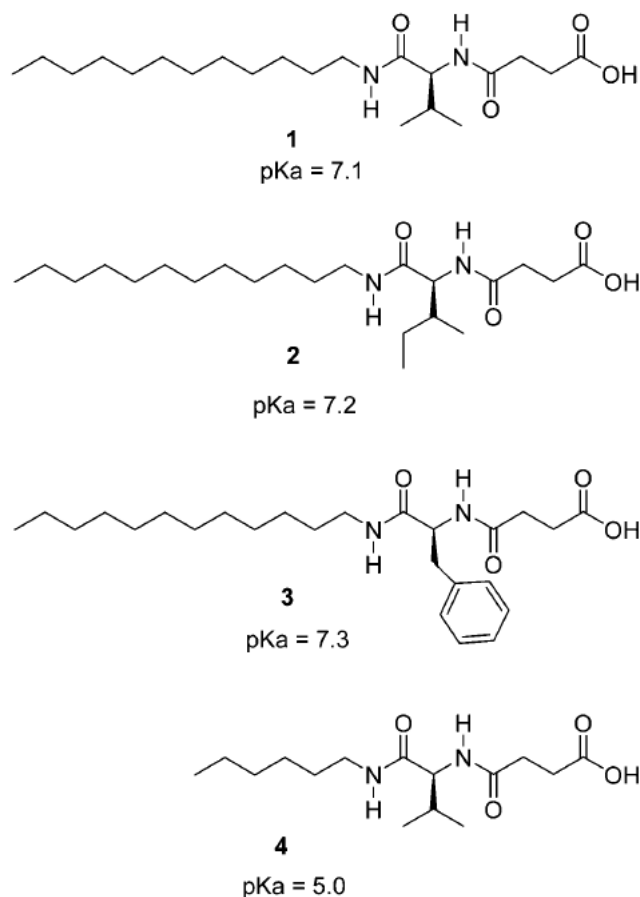


Figura 12 Hidrogelificantes con grupo ácido carboxílico terminal preparados anteriormente en la UJI. ¹⁴

Más tarde, se comenzaron a trabajar con derivados de L-valina que contenían sustituyentes de piridina y sustituyentes de quinolina, tal y como se muestra en la figura 13.¹⁵ Inicialmente se estudiaron los compuestos de piridina **PyrVal3** y **PyrVal8**, el aumento del tamaño de la cadena hidrocarbonada revelaba unos mejores resultados en cuanto a la formación de geles ya que se consiguió reducir la c.m.g. de 19 a 4 mM, respectivamente. Este resultado es el que hizo estudiar los compuestos análogos pero con sustituyentes de quinolina (**QuiVal3** y **QuiVal8**) ya que se pensó que un aumento del tamaño de anillo haría que las interacciones $\pi-\pi$ stacking fueran mayores.¹⁵

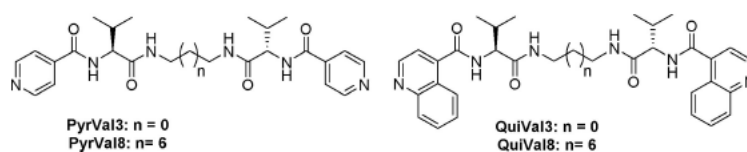
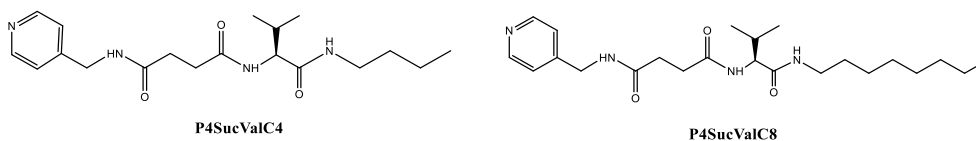


Figura 13 Compuestos derivados de quinolina y piridina preparados con anterioridad en la UJI. ¹⁵

OBJETIVOS

El proyecto llevado a cabo se ha basado en la síntesis de determinados compuestos de carácter anfifílico y el estudio de la capacidad de estos para formar geles. Siguiendo estas bases los objetivos a cumplir han sido los siguientes:

- 1) Síntesis los dos compuestos anfifílicos que se muestran a continuación, que contienen una unidad terminal de piridina y un separador derivado del ácido succínico.



- 2) Realización de pruebas de gelificación con los compuestos sintetizados mediante cambio de solubilidad y de pH, tanto en agua como en otros disolventes orgánicos.
- 3) Valoración ácido-base de los compuestos sintetizados mediante potenciometría.
- 4) Ensayos de reología para estudiar las propiedades mecánicas de los geles obtenidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Síntesis

El compuesto de partida para la ruta sintética de este proyecto es el ZValOH, el aminoácido L-valina, N-prottegido con el grupo Z. Desde este punto se ha diseñado la ruta sintética que se muestra en la figura 14.

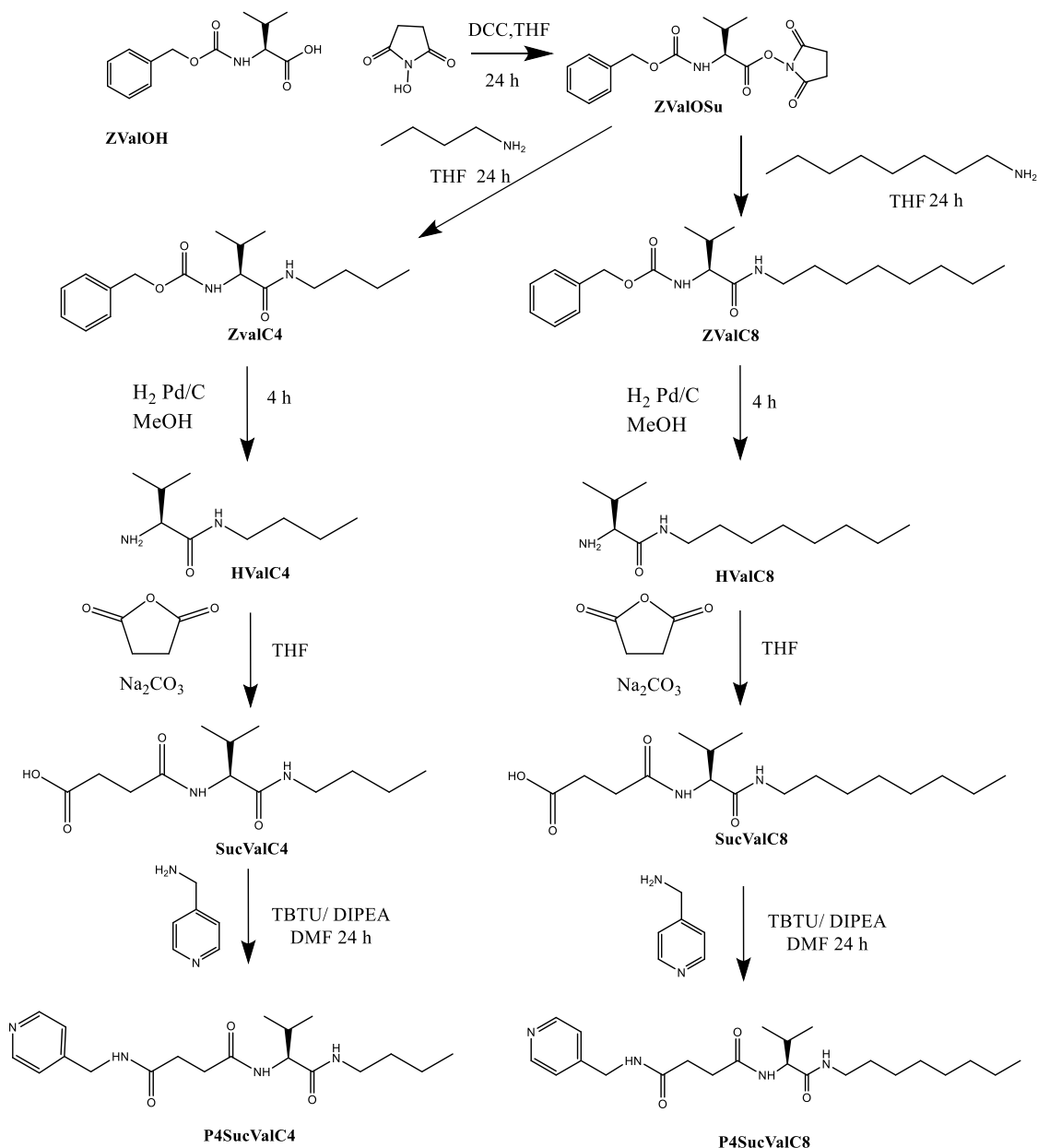


Figura 14 Esquema de síntesis para el proyecto.

Tal y como se observa, se ha llevado a cabo la síntesis de dos compuestos anfifílicos siguiendo unos pasos comunes para ambas reacciones. Primero, el compuesto de partida se ha hecho reaccionar con N-hidroxisuccinimida en presencia de N,N'-diciclohexilcarbodiimida para generar el producto correspondiente (ZValOSu) y diciclohexilurea, un producto muy insoluble que es vital eliminarlo durante el tratamiento de reacción.

A partir de ZValOSu se van a realizar dos reacciones paralelas: una con n-butilamina y otra con n-octilamina dando los productos ZValC4 y ZValC8. La amina primaria actúa como nucleófilo atacando al carbonilo cíclico y generando dos compuestos con diferente longitud de la cadena hidrocarbonada y por lo tanto diferente naturaleza lipofílica.

ZValC4 y ZValC8 se someten a una reacción de hidrogenolisis en presencia paladio soportado en carbono. Los productos obtenidos son HValC4 y HValC8. Se continúa con la reacción con anhídrido succínico en presencia de una base para generar los compuestos SucValC4 y SucValC8, que son monoamidas del ácido succínico. Finalmente, se hacen reaccionar estos productos con 4-aminoetilpirdina, la cual reacciona a través de la amina primaria con el ácido para generar una amida. Los productos finales que se denominan P4SucValC4 y P4SucValC8 y son la base del estudio en el proyecto a partir de ahora.

Caracterización de los productos finales.

Los productos se han caracterizado por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) en espectrofotómetro de 300 MHz para **P4SucValC4** y de 500 MHz para **P4SucValC8**. De ambos productos, así como de todos los intermedios caracterizados, se obtuvo el espectro de ^1H , ^{13}C , COSY, HSQC y también el espectro de masas. En las figuras 15 y 16 se ilustran los espectros de ^1H RMN de ambos productos donde se destacan las señales más características, así como sus acoplamientos.

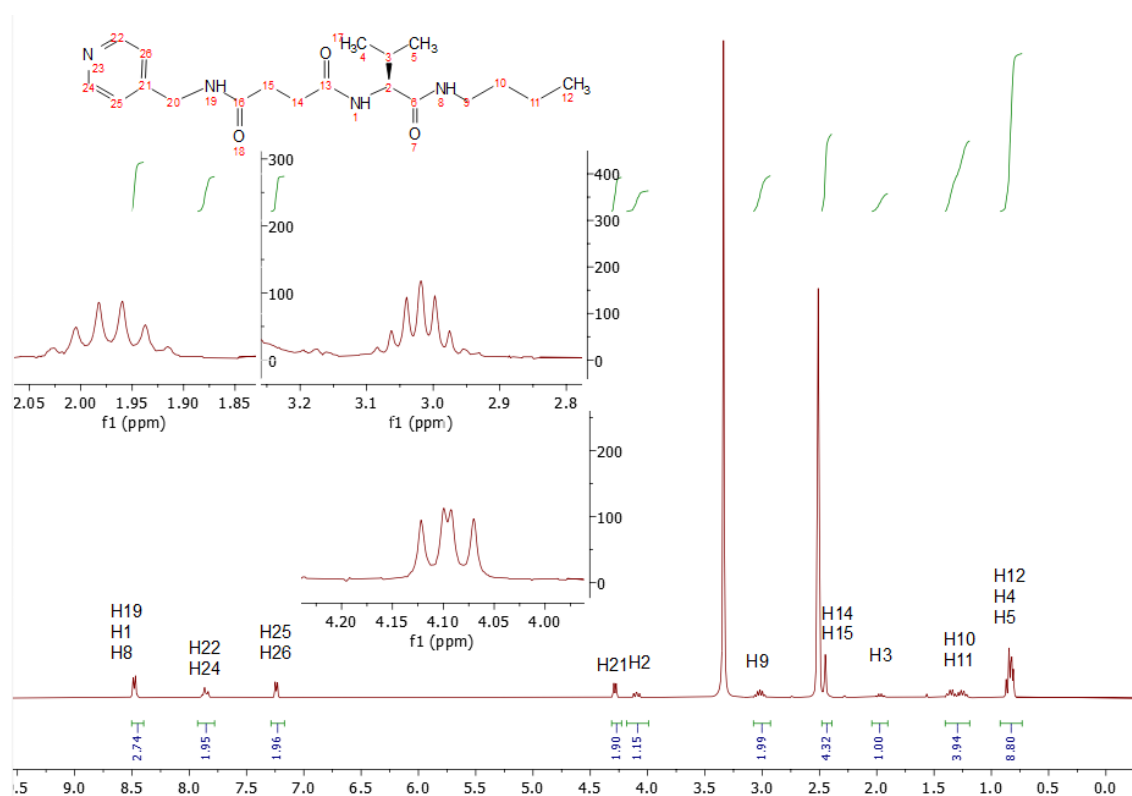


Figura 15 Espectro ^1H RMN de P4SucValC4. (300MHz, 298 K)

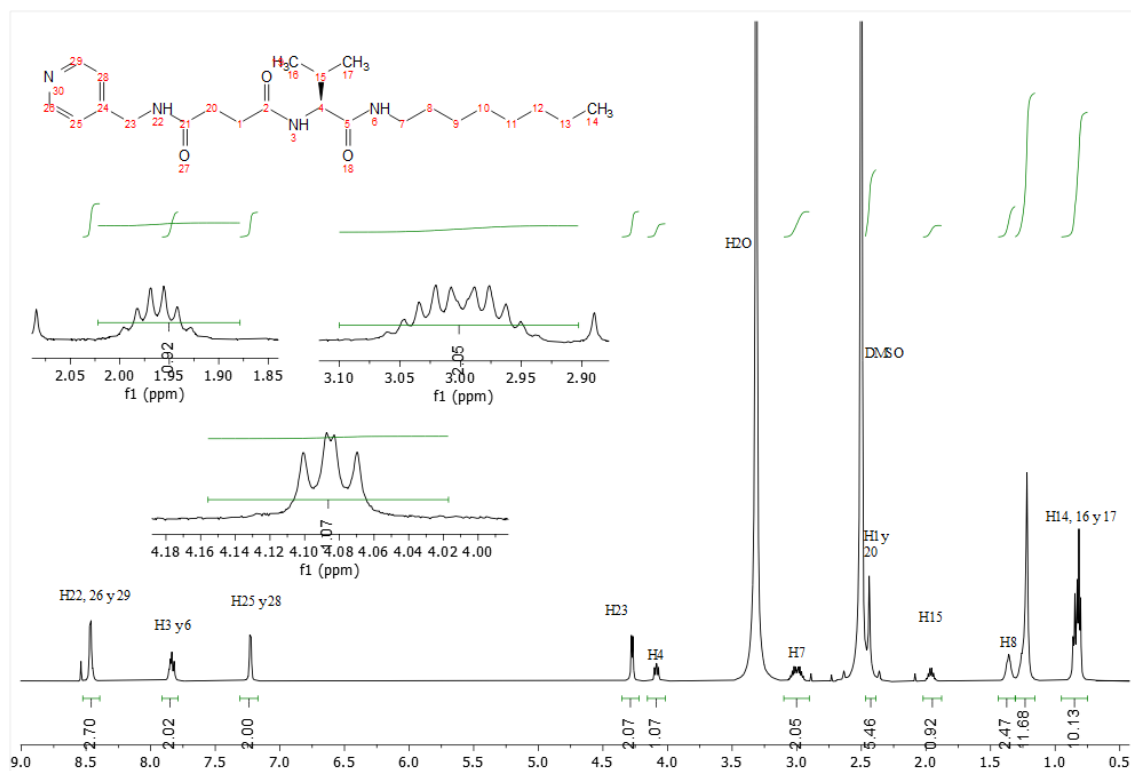


Figura 16 Espectro ^1H RMN de P4SucValC8. (500MHz, 298 K)

Los espectros de ambos productos revelan una serie de similitudes, siendo destacables las señales correspondientes al estereocentro derivado de la L-valina: en primer lugar, se observa la señal más apantallada en ambos sobre 1 ppm que integra por 9 y se trata de los 3 sustituyentes metilo existentes en ambas moléculas. En torno a 2 ppm se observa un septuplete correspondiente al carbono secundario del grupo isopropilo, el cual se acopla con 6 hidrógenos correspondientes a los dos grupos metilo que tiene unidos. Sobre 4,1 ppm se observa una señal que se corresponde con el carbono quiral de la unidad de L-valina, este aparece a un mayor desplazamiento debido a su cercanía a una amida secundaria y a un grupo carbonilo que generan un desapantallamiento notable sobre este hidrógeno. Otra señal que destacar en ambos compuestos es la correspondiente al primer metileno de la cadena hidrocarbonada, se trata de un multiplete que integra por 2 y aparece más desapantallado que el resto de los de la misma cadena por su cercanía al grupo amino que cede densidad electrónica generando este efecto. Es destacable la señal que aparece sobre 4,3 ppm que se corresponde con los dos protones del carbono que se encuentra entre la amina secundaria y el anillo de piridina, motivo por el que se encuentra tan desapantallada; se trata de un doblete que acopla con el protón amidínico.

Las diferencias entre **P4SucValC4** y **P4SucValC8** radican en la longitud de la cadena hidrocarbonada, estas diferencias quedan patentadas en la integración de los espectros: en el espectro de P4SucValC4 se observa una señal a en torno a 1,3 ppm que integra por 4 y se corresponde con las posiciones no terminales de la cadena (H10 (2) y H11 (2)), mientras que para P4SucValC8 se observa una señal que integra por 12 en torno a 1,3 ppm y se corresponde con las mismas posiciones, solo que ahora hay 6 carbonos con 2 protones cada uno (H8, H9, H10, H11, H12, H13).

Ensayos de gelación.

Se realizaron ensayos de gelación de los productos preparados. Primero se hicieron por cambio de temperatura, donde se pesaba una determinada cantidad del producto, se añadía el volumen de disolvente necesario para conseguir la concentración necesaria y se calentaba con pistola de aire hasta su completa disolución. Finalmente, se dejaban reposar sobre un corcho para conseguir un enfriamiento gradual.

Los ensayos se realizaron con agua, diclorometano, cloroformo, acetonitrilo y tolueno y arrojaron los resultados que se muestran en la tabla 1:

	P4SucValC8	P4SucValC4
Agua	2 mg/ml	No forma
Tolueno	2,5 mg/ml	5 mg/ml
Acetonitrilo	5 mg/ml	10 mg/ml
Diclorometano	4 mg/ml	5 mg/ml
Cloroformo	No forma	5 mg/ml

Tabla 1 Valores experimentales de c.m.g para los productos en diferentes disolventes.

Para que las moléculas del gelificante se agreguen es necesario que se puedan dar interacciones no covalentes entre ellas. Los compuestos **P4SucValC4** y **P4SucValC8** presentan ambos tres grupos amida: la agrupación N-H de la amida actúa como dador de puentes de hidrógeno y el grupo carbonilo como aceptor. La agregación del producto va a depender de la solubilidad del compuesto en el disolvente ya que cuanto mayor es esta más difícil es que se agregue y que forme geles. Adicionalmente, hay que tener en cuenta la

polaridad del disolvente, ya que cuanto mayor es esta, menores van a ser las interacciones por puente de hidrógeno entre las moléculas del compuesto y más difícil va a ser que se forme un gel.

Los datos experimentales revelan que el **P4SucValC8** es capaz de formar geles a una concentración mínima más baja que **P4SucValC4** para un mismo disolvente. La diferencia entre ambos compuestos radica en la cadena hidrocarbonada de uno de sus extremos. El compuesto denominado **P4SucValC8** presenta cuatro grupos metileno adicionales y, por lo tanto, es más hidrofóbico (ClogP= 3,514) que **P4SucValC4** (ClogP= 1,398). Esto hace que **P4SucValC8** sea menos soluble en agua y presente mayor capacidad para dar interacciones de tipo Van der Waals entre las cadenas alquílicas. Teniendo en cuenta lo anterior, es razonable que **P4SucValC8** forme hidrogeles a 2 mg/ml mientras que **P4SucValC4** no los forme incluso a concentraciones de hasta 10 mg/ml.

Si se compara entre los diferentes disolventes se puede observar el efecto de la polaridad sobre la gelificación. El disolvente más apolar de los estudiados es el tolueno y es capaz de formar geles a concentraciones más bajas que el resto de los disolventes. Por otro lado, el acetonitrilo es el más polar y para el producto **P4SucValC8** no forma geles, mientras que para **P4SucValC4** lo hace a concentraciones muy altas.

En las siguientes figuras se ilustran fotografías de los diferentes geles sintetizados:

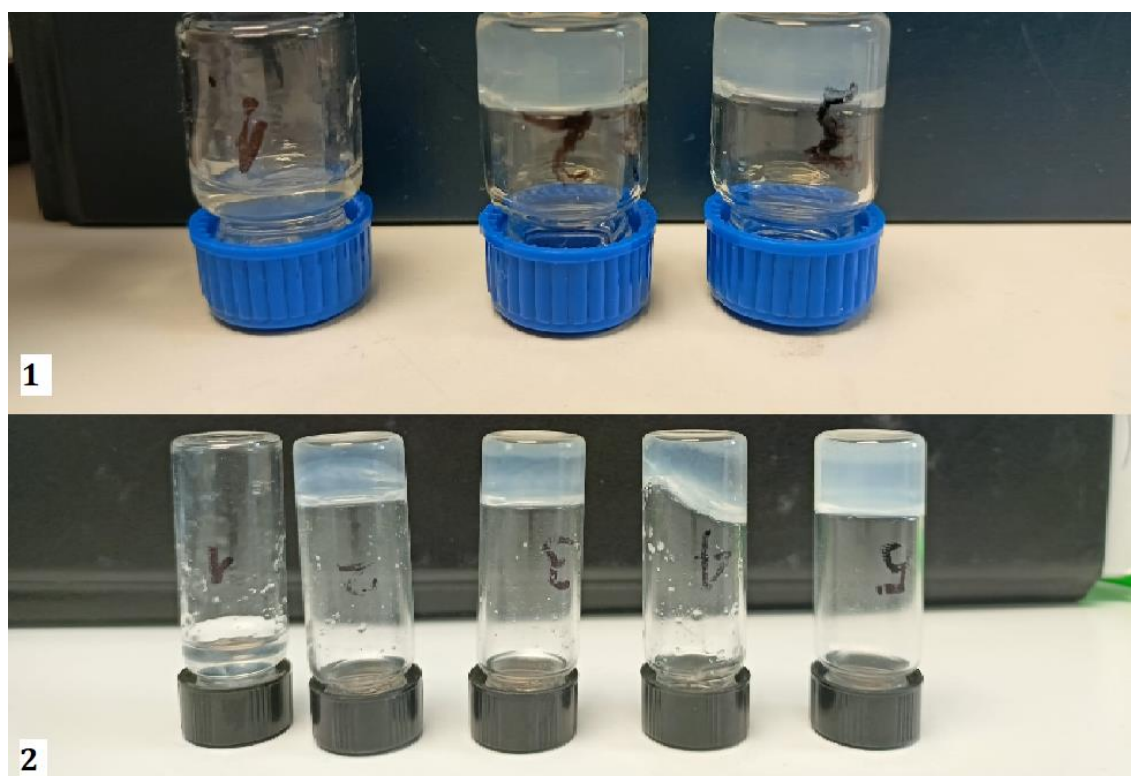


Figura 17 1: Hidrogel de **P4SucValC8** sintetizado por cambio de pH 2: Hidrogel de **P4SucValC8** sintetizado por cambio de solubilidad.

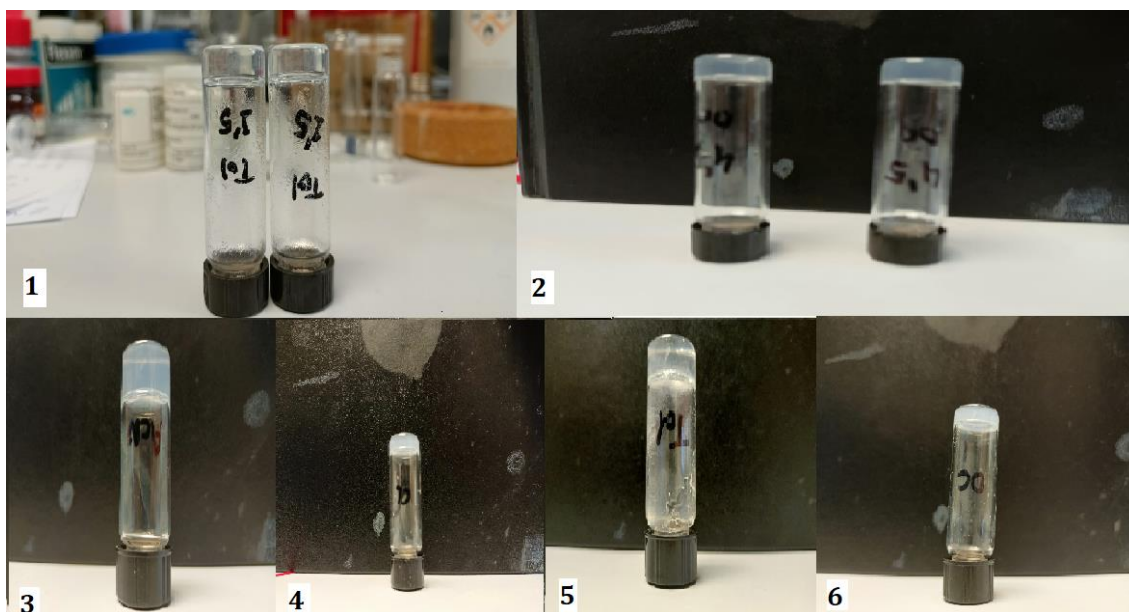


Figura 18 P4SucValC8 1: Acetonitrilo 2: Diclorometano P4SucValC4 3: Acetonitrilo 4: Cloroformo 5: Tolueno 6: Diclorometano

En la figura 17 (1) se ilustran los hidrogeles obtenidos por cambio de pH para **P4SucValC8**. Se observa que la c.m.g por este método es de 2 mg/ml, al igual que por el método de calentamiento y enfriamiento. La forma de proceder en este experimento fue pesar las cantidades correspondientes del compuesto y añadir el volumen necesario de H₂O. Luego, se añadieron 3 gotas de HCl 1M con una pipeta a cada vial para disolver el P4SucValC8 (protonación de la piridina) y se introdujeron los viales en un vaso con NH₃ para generar una atmósfera básica que permita la variación del pH.

Estabilidad térmica de los geles.

Se realizó un estudio de estabilidad térmica. Para ello, se utilizó un sistema de calefacción de viales con control de temperatura preciso, se programaba una temperatura y se mantenía cada vial durante 5 minutos a esa temperatura. De esta forma se consigue conocer la temperatura aproximada a la que el gel se rompe.



Figura 19 Sistema de calefacción para el ensayo realizado

En la tabla 2 se ilustran los valores a los que rompieron los diferentes geles sintetizados:

	P4SucValC8	P4SucValC4
Agua	55°C	No forma
Tolueno	55°C	65°C
Acetonitrilo	No forma	65°C
Diclorometano	35°C	35°C
Cloroformo	No forma	35°C

Tabla 2 Valores de estabilidad térmica experimentales para los geles sintetizados.

Para **P4SucValC8** se observa que los geles se rompen a 55°C en agua y tolueno y a 35°C en diclorometano, este último se ve limitado por la temperatura de ebullición del disolvente. En el caso del **P4SucValC4** se observan temperaturas de rotura de 65 °C que son algo más altas para tolueno y acetonitrilo. Respecto a la reversibilidad de los geles, se observó para el diclorometano en **P4SucValC8** y para tolueno y acetonitrilo en **P4SucValC4** que al dejarlos enfriar volvían a formarse de manera espontánea.

Potenciometría

Se realizaron ensayos de potenciometría de ambos productos, para ello se pesaron en un vial 15 mg del compuesto correspondiente (pesados con una exactitud de 0,1 mg) y se disolvieron en 3,5 ml de H₂O y 3,5 ml de HCl 0,1M. Esta disolución se lleva al potenciómetro y se valora NaOH 0,1 N que se adiciona a una velocidad de 0,04 ml/min con una bomba de jeringa. Con los datos de volumen añadido y los valores de pH que proporciona el potenciómetro (una medida cada 10 segundos), se tratan con el programa HYPERQUAD-2008 para calcular el valor experimental de pKa y compararlo con el valor teórico.

Tanto **P4SucValC4** como **P4SucValC8** presentan la piridina como único grupo capaz de protonarse, por lo que se va a observar un único punto de equivalencia y por tanto un valor de pKa. En la tabla 3 se ilustran los valores de pKa obtenidos experimentalmente y en las figuras 17 y 18.

Compuesto	pKa
P4SucValC4	5,06
P4SucValC8	5,41

Tabla 3 Valores experimentales de pKa

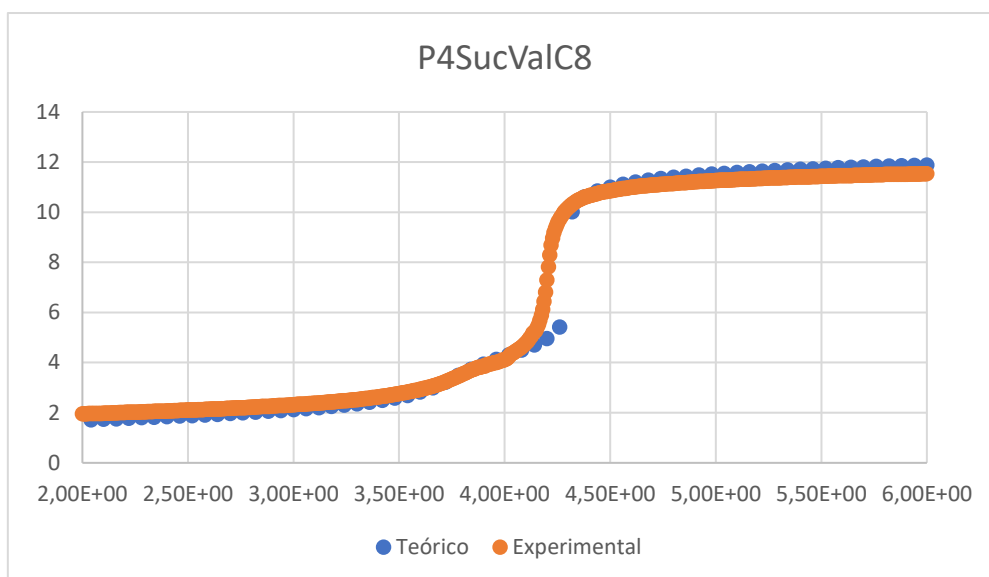


Figura 20 Curva de valoración teórica y experimental de P4SucValC8

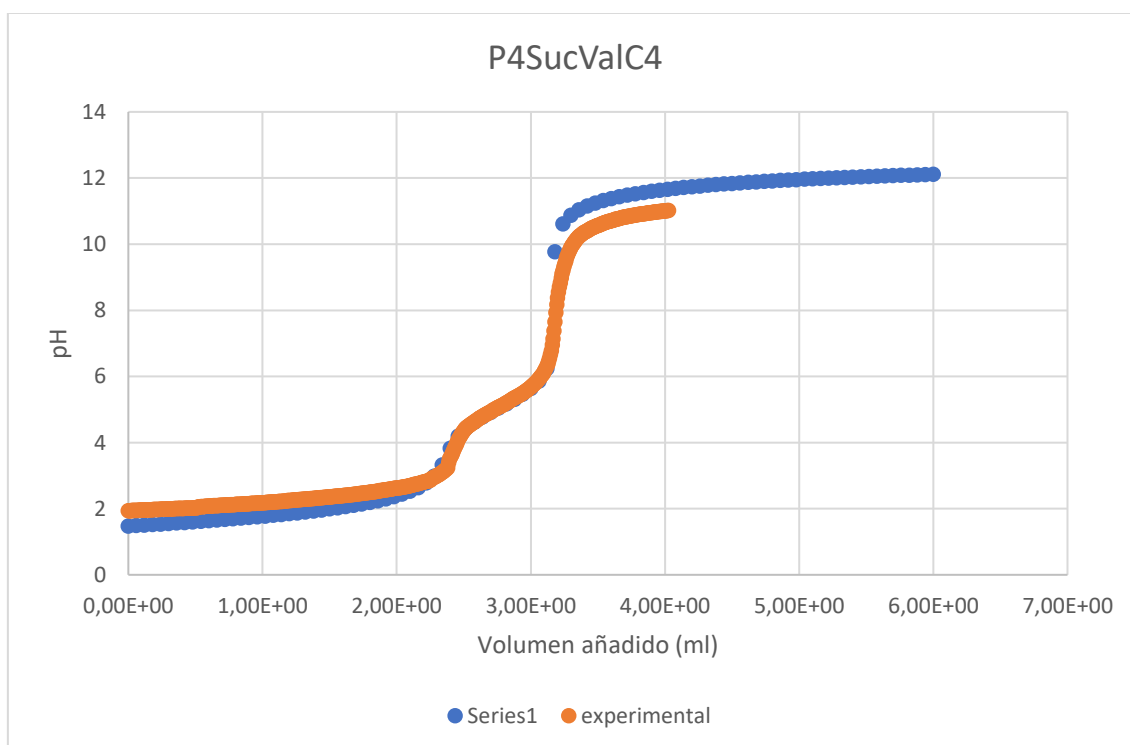


Figura 21 Curva de valoración teórica y experimental de P4SucValC8

Se observa para ambos casos que los datos experimentales se ajustan bastante bien a los teóricos teniendo en cuenta que estos últimos están calculados para la cantidad de compuesto pesado y el volumen final preparado. En cuanto a los valores de pKa se observa que el producto **P4SucValC4** es ligeramente más ácido que **P4SucValC8**. Una explicación razonable es que la mayor hidrofobia de **P4SucValC8** hace que la formación de la especie

neutra (el proceso de desprotonación del piridinio) sea menos favorable, siendo por tanto menos ácida que la especie protonada.

Ensayos de reología.

A modo de complementar el proyecto se han realizado estudios de reología para comprobar si los compuestos sintetizados formaban o no geles. Para ello se hacen medidas en el reómetro y se obtienen los datos del módulo elástico (G') y módulo viscoso (G'') en función de la tensión aplicada. Si el módulo elástico se mantiene por encima del módulo viscoso indica la presencia de un gel.

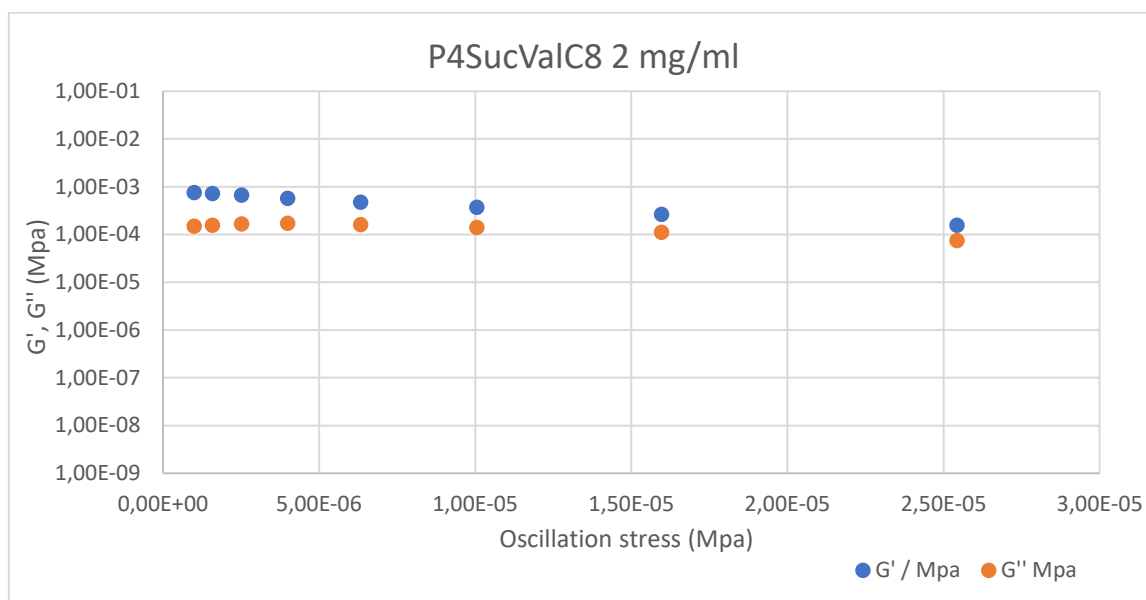


Figura 23 Ensayo de reología del producto P4SucValC8 2 mg/ml

La figura 23 muestra la representación de los módulos elástico y viscoso frente a la tensión aplicada para el compuesto **P4SucValC8** a una concentración de 2 mg/ml; se puede observar que el valor de G' se mantiene en todo momento por encima del valor de G'' por lo que se puede concluir que el compuesto si forma geles a esa concentración. Es destacable la pérdida de linealidad a valores altos de tensión (no se muestran) que se debe a que el gel se comienza a transformar en un líquido viscoso.

Con el producto **P4SucValC4** se ha realizado el mismo ensayo con un gel de tolueno y concentración 5 mg/ml, sin embargo, los problemas a la hora de sacarlo del vial para ponerlo en el reómetro hicieron que se suspendiera el ensayo. Por ello, y para complementar este ensayo se ha hecho un estudio comparativo con el compuesto

(PyrSucVal)₂Oct, se trata de una molécula más grande que **P4SucValC8** y presenta en sus dos extremos una unidad de piridina.

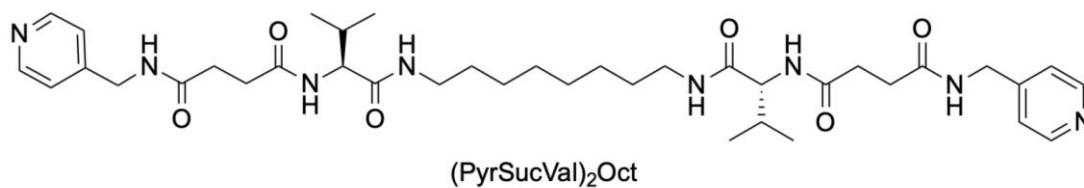


Figura 24 Estructura del **(PyrSucVal)₂Oct**.

El estudio comparativo se ha basado en observar los valores de G' de ambos compuestos a la misma concentración, ya que cuanto mayor es el módulo elástico mayor es la fortaleza tiene el gel formado. En la figura 25 se muestran los resultados obtenidos.

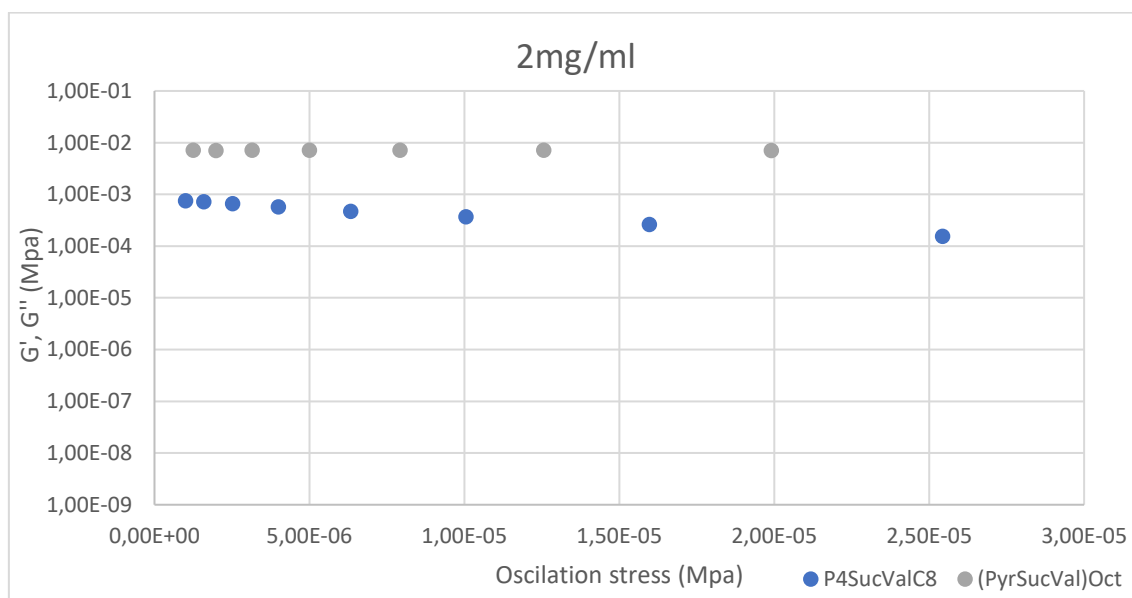


Figura 25 Comparación del módulo elástico de **P4SucValC8** y **(PyrSucVal)₂Oct** a 2 mg/ml.

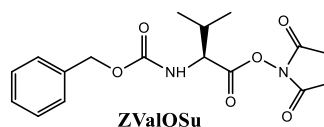
Se observa que **(PyrSucVal)₂Oct** presenta un módulo elástico mayor, lo que encaja con su estructura ya que es un compuesto que presenta una estructura más compleja y va a dar un mayor número de interacciones no covalentes. Esto hace concluir que este compuesto va a formar geles más fuertes que **P4SucValC8**.

SECCIÓN EXPERIMENTAL.

En este proyecto se han desarrollado dos tipos de experimentación. Primero se ha desarrollado la ruta sintética de dos compuestos químicos utilizando técnicas clásicas del laboratorio orgánico, posteriormente estos compuestos fueron caracterizados por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y por espectrometría de masas. Una vez sintetizados y caracterizados los compuestos se han estudiado sus propiedades gelificantes por cambio de solubilidad y de pH. Por último, se han estudiado las propiedades ácido-base de los compuestos mediante potenciometría y se han realizado ensayos reológicos y de nanopartículas a modo complementario.

SÍNTESIS

Síntesis de ZValOSu a partir de ZValOH.



Se pesan 4,992 g (19,866 mmol, 1 eq) de **ZValOH** en un vaso de precipitados, de forma paralela se pesan 2,309 g (20,065 mmol 1,01 eq) de N-hidroxisuccinamida y se llevan ambos a un balón de 250 ml provisto de un agitador magnético para disolverlos en 54 ml de THF. Una vez disueltos por completo se pesan 4,14 g (20,065 mmol 1,01 eq) de DCC, se disuelven en 20 ml de THF, se llevan a un embudo de adición que se acopla al balón y se deja añadir el reactivo gota a gota sobre la mezcla de reacción. Una vez añadido completamente se deja la mezcla en baño de hielo durante 1 hora para llevarlo posteriormente al congelador durante toda la noche. El resultado es la formación de un precipitado de color blanco en el fondo del balón que se debe separar de la disolución, para ello, se procede a filtrar a vacío con placa filtrante. La disolución obtenida se lleva al rotavapor para concentrarla y posteriormente se deja a vacío durante unas horas. Una vez finalizado el tratamiento se tiene un residuo de color blanco que se cristaliza disolviéndolo por calentamiento en iso-propanol y luego enfriándolo lentamente, dando lugar a un sólido de color blanco y aspecto cristalino.

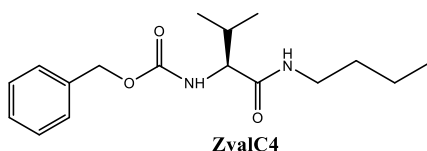
ZValOSu obtenido: 4,154 g

Rendimiento: 60,1 %

¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 8.06 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.44 – 7.33 (m, 5H), 5.09 (s, 2H), 4.35 (dd, *J* = 8.3, 6.3 Hz, 1H), 2.83 (s, 5H), 2.19 (q, *J* = 6.7 Hz, 1H), 1.03 (d, 6H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ 169.20, 169.00, 156.08, 136.45, 128.55, 128.22, 128.17, 66.68, 58.02, 29.83, 25.60, 18.52.

Síntesis de ZValC4 a partir de ZValOSu.



Se pesan 3 gramos de **ZValOSu** (sintetizado en la reacción anterior) en un vaso de precipitados que se disuelven en 30 ml de THF y se llevan a un embudo de adición. De forma paralela, se toman con una micropipeta 0,85 ml de N-butilamina y se añaden a un vaso de precipitados donde se disuelven con 20 ml de THF para llevarlos a un balón de 100 ml con agitador magnético. El balón se introduce en un recipiente lleno de silicona para mantener una temperatura homogénea de unos 50°C. Se adiciona el **ZValOSu** gota a gota y se observa la formación de una pasta blanca que va disolviéndose con el transcurso del tiempo; en el caso de que se mantuviera habría que añadir un volumen mayor del disolvente. Una vez finalizada la adición se deja la mezcla durante toda la noche a la misma temperatura. Al día siguiente, se para la agitación y se lleva la mezcla de reacción a concentrar al rotavapor. El resultado es la formación de un sólido blanco al que se le van a realizar 3 lavados:

- 1- Lavado básico: Se añaden al matraz 25ml de NaOH 1M y 25 ml de agua destilada, se sonica durante 30 minutos y se filtra a vacío en la fiola.
- 2- Lavado ácido: Se añaden al matraz 25 ml de HCl 1M y 25 ml de agua destilada, se sonica durante 30 minutos y se filtra a vacío en la fiola.
- 3- Lavado neutro: Se añaden 50ml de agua destilada, se lleva al sónica durante 30 minutos y se filtra a vacío en la fiola.

Una vez terminados los lavados se lleva el sólido resultante a la estufa y se deja secar durante toda la noche, posteriormente se pesa y se lleva a caracterizar.

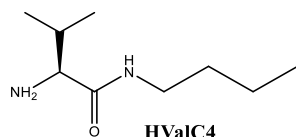
ZValC4 obtenido: 1,81 g

Rendimiento: 68,6 %

¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ 7.86 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 7.43 – 7.28 (m, 5H), 7.18 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 5.05 (s, 2H), 3.80 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 3.18 – 2.96 (m, 2H), 1.94 (h, J = 6.9 Hz, 1H), 1.45 – 1.22 (m, 4H), 0.92 – 0.82 (m, 9H).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO): δ 171.35, 156.54, 137.62, 128.78, 128.20, 128.08, 65.80, 60.84, 38.55, 31.58, 30.72, 19.97, 19.66, 18.72, 14.09.

Síntesis de HValC4 a partir de ZValC4.



Se trasvasan 1,81 g de **ZValC4** a un balón de 250 ml y de forma paralela se pesan 0,181 g de catalizador de paladio soportado en carbono, ambos se llevan a un balón junto con 30 ml de metanol. La mezcla se pone en agitación aplicando atmósfera inerte (N₂) para eliminar el aire presente en el medio.

Una vez preparada la mezcla se llena un globo de hidrógeno para acoplarlo al balón; la reacción se deja en atmósfera de hidrógeno y a temperatura ambiente durante 4 horas.

Una vez finalizada la reacción se filtra el catalizador en placa filtrante utilizando celita, con el fin de evitar que la placa quede obturada por el catalizador. Al filtrado se le añade más metanol y se lleva al rotavapor para concentrarlo, el resultado es la formación de un residuo de carácter aceitoso que se deja a vacío hasta el día siguiente, momento en el que se caracteriza.

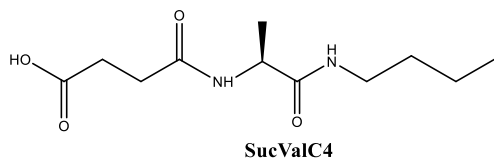
HValC4 obtenido: 0,74 g

Rendimiento: 73,1 %

¹H NMR (400 MHz, DMSO): δ 3.15 – 2.98 (m, J = 6.6 Hz, 2H), 2.89 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 1.91 – 1.77 (m, 1H), 1.45 – 1.21 (m, 4H), 0.89 – 0.75 (m, 9H).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO): δ 174.86, 60.59, 48.30, 32.12, 31.80, 20.02, 17.62, 14.12.

Síntesis de SucValC4 a partir de HValC4.



Se parte de la cantidad de **HValC4** que se encuentra en forma de aceite en un balón de 250 ml (0,74 g, 4,296 mmol), se le añaden 30 ml de THF y se dejan en el sonicador hasta obtener una muestra homogénea. Una vez preparado se pesan 1,73 g de Na₂CO₃ (13,455 mmol 3,8 eq), se añaden a la mezcla y se dejan en agitación durante 10 minutos en baño de hielo. Por otro lado, se pesan 0,86 g (7,082 mmol 2 eq) de anhídrido succínico, se disuelven en 20 ml de THF y se llevan al embudo de adición, el cual se acopla al balón y se realiza la adición gota a gota. Una vez añadido se pone un tapón y se deja en baño de hielo durante toda la noche. Al día siguiente, se observa una disolución de color blanco que se lleva a concentrar al rotavapor y se deja a vacío durante 30 minutos, se le añaden 30 ml de agua y se lleva al sonicador para formar una suspensión.

La mezcla se trata con HCl hasta pH=3 y se realiza una extracción líquido-líquido con cloroformo de donde se va a rescatar la fase orgánica (parte inferior). A la fase orgánica se le añade MgSO₄ para secarla, se filtra con papel de filtro y se lleva al rotavapor obteniendo el producto final, que se pesa y caracteriza.

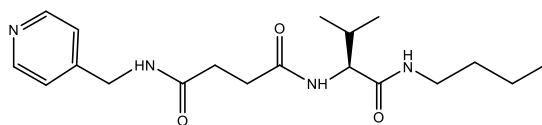
SucValC4 obtenido: 0,48 g

Rendimiento: 49,8 %

¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 7.90 (d, *J* = 9.7 Hz, 2H), 4.08 (dd, *J* = 9.0, 6.7 Hz, 1H), 3.14 – 2.81 (m, 1H), 2.39 (s, 4H), 2.04 – 1.88 (m, 1H), 1.45 – 1.18 (m, 4H), 0.92 – 0.78 (m, 9H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ 174.52, 171.26, 58.28, 38.54, 31.60, 30.79, 30.70, 19.99, 19.68, 18.54, 14.12.

Síntesis de P4SucValC4 a partir de SucValC4.



P4SucValC4

Se pesan 0,48 g de **SucValC4** (1,762 mmol 1 eq) en un matraz de 250 ml al que se le adicionan 30 ml de DMF y se deja en agitación a temperatura ambiente hasta obtener una muestra homogénea. A la mezcla se le añaden 0,572 g de TBTU (1,780 mmol 1,01 eq) y 0,31 ml de DIPEA (1,780 mmol 1,01 eq) y se deja en agitación. Paralelamente en un embudo se le añaden 0,178 ml de 4-aminometilpiridina (1,762 mmol 1 eq) disueltos en 20 ml de DMF, se añade gota a gota sobre el matraz y se deja en agitación durante toda la noche a temperatura ambiente.

Al día siguiente, se tiene una solución de color naranja que no precipita al añadirle agua, es por ello por lo que se realiza una extracción líquido-líquido con agua ácida para eliminar el DMF y con diclorometano de donde se rescata el producto final, una vez separado se lleva al rotavapor y se deja secar durante toda la noche.

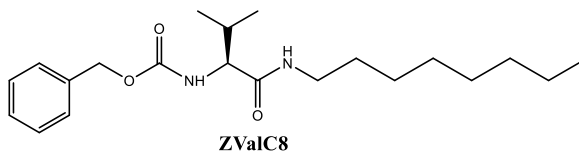
P4SucValC4 obtenido: 0,22 g

Rendimiento: 34,4 %

¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 8.51 – 8.43 (m, 3H), 7.84 (d, J = 9.3 Hz, 2H), 7.27 – 7.19 (m, 2H), 4.28 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 4.09 (dd, J = 8.9, 6.6 Hz, 1H), 3.11 – 2.92 (m, J = 6.5 Hz, 2H), 2.44 (s, 2H), 1.96 (h, J = 6.8 Hz, 1H), 1.43 – 1.16 (m, 4H), 0.89 – 0.77 (m, 9H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ 172.45, 171.98, 171.24, 149.89, 149.10, 122.46, 58.27, 41.53, 38.55, 31.55, 31.20, 30.98, 30.67, 19.98, 19.69, 18.48, 14.10.

Síntesis de ZValC8 a partir de ZValOSu.



Se pesan 3 gramos de **ZValOSu** (8,612 mmol 1 eq) en un vaso de precipitados, se disuelven en 30 ml de THF y se llevan a un embudo de adición. De forma paralela, se toman con una micropipeta 1,4 ml (8,612 mmol 1 eq) de N-octilamina, se añaden a un vaso de precipitados junto con 20 ml de THF y se llevan a un balón de 100 ml provisto de un agitador magnético. El balón se introduce en un recipiente lleno de silicona para mantener una temperatura homogénea de unos 50°C. Se adiciona el **ZValOSu** gota a gota y se observa la formación de una pasta blanca que va disolviéndose con el transcurso del tiempo, en el caso de que se mantuviera habría que añadir un volumen mayor del disolvente. Una vez finalizada la adición se deja la mezcla durante toda la noche a la misma temperatura.

Al día siguiente, se para la agitación y se lleva la mezcla de reacción a concentrar al rotavapor: el resultado es la formación de un sólido blanco al que se le van a realizar 3 lavados:

- Lavado básico: Se añaden al matraz 25ml de NaOH 1M y 25 ml de agua destilada, se sonica durante 30 minutos y se filtra a vacío en la fiola.
- Lavado ácido: Se añaden al matraz 25 ml de HCl 1M y 25 ml de agua destilada, se sonica durante 30 minutos y se filtra a vacío en la fiola.
- Lavado neutro: Se añaden 50ml de agua destilada, se lleva al sónica durante 30 minutos y se filtra a vacío en la fiola.

Una vez terminados los lavados se lleva el sólido resultante a la estufa y se deja secar durante toda la noche, posteriormente se pesa y se lleva a caracterizar.

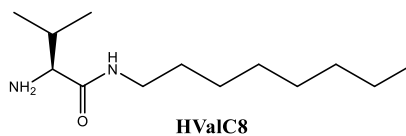
ZValC8 obtenido: 2,104 g

Rendimiento: 67,4 %

¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 7.87 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 7.50 – 7.28 (m, 5H), 7.20 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 5.03 (s, 2H), 3.78 (dd, $J = 9.0, 7.2$ Hz, 1H), 3.18 – 2.91 (m, 2H), 1.92 (h, $J = 6.7$ Hz, 1H), 1.24 (s, 12H), 0.91 – 0.80 (m, 9H).

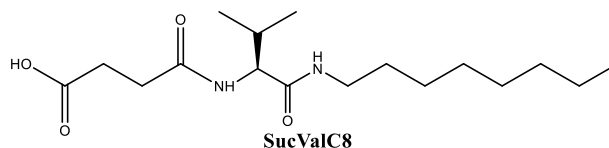
¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ 65.79, 60.84, 38.83, 31.68, 30.71, 29.45, 29.12, 26.78, 25.70, 22.55, 19.67, 18.73, 14.42.

Síntesis de HValC8 a partir de ZValC8.



Este paso de la síntesis no se realizó porque se encontró en el laboratorio una muestra de SucValC8 que permitió continuar la ruta sintética desde el último paso.

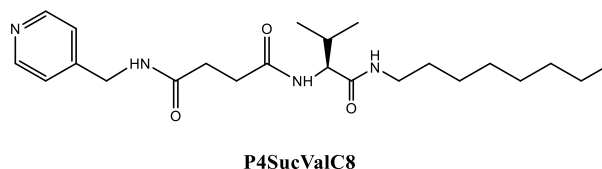
Síntesis de SucValC8 a partir de HValC8.



Este paso de la síntesis no se realizó porque se encontró en el laboratorio una muestra de SucValC8 que permitió continuar la ruta sintética desde el último paso.

¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 7.90 – 7.79 (m, 2H), 4.08 (dd, J = 9.0, 6.9 Hz, 1H), 3.17 – 2.89 (m, 2H), 2.47 – 2.32 (m, 4H), 1.93 (h, J = 6.8 Hz, 1H), 1.24 (s, 12H), 0.91 – 0.78 (m, 9H).

Síntesis de P4SucValC8 a partir de SucValC8.



Se pesan en un balón 2,655 gramos de **SucValC8** y se le añaden 30 ml de DMF (disolvente). Por otro lado, se pesan 2,621 g de TBTU y se añaden al balón, luego, se añaden 1,4 ml de DIPEA y por último se añaden 0,818 ml de 4-aminometilpiridina para que la reacción comience. Esta mezcla se deja en agitación durante toda la noche a temperatura ambiente, con el embudo tapado.

Al día siguiente, se procede con el tratamiento de reacción: se añade un volumen de agua destilada y se deja agitando hasta que se forma un precipitado pastoso de color blanco, este se filtra en la fiola y posteriormente se lleva a cabo la siguiente secuencia de lavados:

- Lavado básico: Se añaden al matraz 25ml de NaOH 1M y 25 ml de agua destilada, se lleva al sunicador durante 30 minutos y se filtra en la fiola.
- 2 lavados neutros: Se añaden 50 ml de agua destilada, se lleva al sunicador durante 30 minutos y se filtra en la fiola.

Es importante no realizar un lavado ácido ya que el producto final presenta un grupo amina que, en medio ácido, se va a protonar con facilidad pasando a la fracción soluble y así se perdería el producto con el filtrado. Finalmente, el residuo sólido se lleva a la estufa de vacío hasta el día siguiente, momento en el que se pesa y se lleva a caracterizar por RMN.

P4SucValC8 obtenido: 1,741 g.

Rendimiento: 51,5 %

¹H NMR (500 MHz, DMSO): δ 8.49 – 8.43 (m, 3H), 7.88 – 7.80 (m, 2H), 7.23 (d, J = 5.1 Hz, 2H), 4.27 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 4.09 (dd, J = 8.9, 6.6 Hz, 1H), 3.07 – 2.93 (m, 2H), 2.44 (d, J = 3.1 Hz, 3H), 1.96 (q, J = 6.8 Hz, 1H), 1.36 (s, 2H), 1.22 (s, 10H), 0.83 (dt, J = 15.1, 6.5 Hz, 9H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO): δ 173.42, 172.41, 169.53, 149.57, 147.13, 122.51, 59.00, 46.16, 43.86, 32.17, 31.81, 31.55, 30.24, 29.35, 29.28, 27.24, 27.15, 22.72, 18.57, 14.09.

Formación de geles

Por cambio de temperatura.

Todos los experimentos de este tipo realizados en el proyecto siguen el mismo procedimiento:

Para preparar un hidrogel de P4SucValC8 de concentración de 2 mg/ml se pesan 2 mg del compuesto en una balanza de precisión y se introducen en un vial de 8 ml con tapón de rosca. Una vez preparado se toma 1 ml de H₂O con una micropipeta y se introduce en el mismo vial para llevarlo al sonicador. Una vez se obtiene una muestra homogénea se procede a calentar el vial con una pistola de aire caliente hasta completa disolución del sólido. Finalmente, se deja el vial correspondiente sobre un corcho para que el enfriamiento sea lento y transcurridos unos minutos se observa la formación de un gel.

Por cambio de pH

Todos los experimentos de este tipo realizados en el proyecto siguen el mismo procedimiento:

Para preparar un hidrogel de P4SucValC8 de concentración 2 mg/ml se pesan 2 mg del compuesto en una balanza de precisión y se introducen en un vial de boca ancha con tapón de rosca. Una vez preparado se lleva al sonicador durante 10 minutos para conseguir una muestra homogénea a la que se le añaden 3 gotas de HCl 1M para conseguir la completa disolución del gelificante. Finalmente, se introduce el vial abierto en un vaso de precipitados que contiene 10 ml de una disolución de NH₃ al 30% y se deja durante 30 minutos, tiempo en el cual ya se observa un gel resistente a la inversión.

CONCLUSIÓN

En el desarrollo de este trabajo se marcaron como objetivos principales la síntesis de dos compuestos de carácter anfifílico, su caracterización y el posterior análisis de sus propiedades gelificantes.

Los compuestos sintetizados se obtuvieron con un buen rendimiento y se realizaron los correspondientes ensayos de gelación. Los resultados obtenidos demostraron que **P4SucValC8** tiene la capacidad de formar geles a concentraciones inferiores que **P4SucValC4**; esto concuerda con los datos teóricos ya que **P4SucValC8** presenta una cadena hidrocarbonada más grande que hace que las interacciones de Van der Waals sean mayores y se forme el gel con mayor facilidad, además este compuesto presenta menor solubilidad en agua que demuestra su facilidad de formar un hidrogel. Por otro lado, se realizaron ensayos con disolventes de diferente polaridad donde se mostró que cuanto menor es la polaridad mayor la capacidad de autoensamblaje.

Para complementar el proyecto, se estudiaron las propiedades ácido-base mediante potenciometría y se concluyó que **P4SucValC4** presenta mayor acidez debido a que su menor hidrofobia hace más estable su base conjugada.

Los ensayos de reología de determinación de valores de G' y G'' confirman que el material formado por P4SucValC8 puede considerarse un hidrogel.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Feng, X.; Luo, Y.; Li, F.; Jian, X.; Liu, Y. Development of Natural-Drugs-Based Low-Molecular-Weight. **2021**, *7*, 105. <https://doi.org/10.3390/gels7030105>
- (2) Eelkema, R.; Pich, A. Pros and Cons: Supramolecular or Macromolecular: What Is Best for Functional Hydrogels with Advanced Properties? *Adv. Mater.* **2020**, *32* (20), 190612. <https://doi.org/10.1002/adma.201906012>.
- (3) Skilling, K. J.; Citossi, F.; Bradshaw, T. D.; Ashford, M.; Kellam, B.; Marlow, M. Insights into Low Molecular Mass Organic Gelators: A Focus on Drug Delivery and Tissue Engineering Applications. *Soft Matter* **2014**, *10* (2), 237–256. <https://doi.org/10.1039/c3sm52244j>.
- (4) Draper, E. R.; Adams, D. J. Low-Molecular-Weight Gels: The State of the Art. *Chem* **2017**, *3* (3), 390–410. <https://doi.org/10.1016/j.chempr.2017.07.012>.
- (5) Schweitzer-Stenner, R.; Alvarez, N. J. Short Peptides as Tunable, Switchable, and Strong Gelators. *J. Phys. Chem. B* **2021**, *125* (25), 6760–6775. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.1c01447>.
- (6) Estroff, L. A.; Hamilton, A. D. Water Gelation by Small Organic Molecules. **2004**, *104* (3), 1201–1217. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
- (7) Fuhrhop, J-H.; Wang, T. Bolaamphiphiles. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2901–2937.
- (8) Lakshminarayanan, V.; Chockalingam, C.; Mendes, E. Gelation Kinetics-Structure Analysis of PH-Triggered Low Molecular Weight Hydrogelators. **2021**, 2256–2261. <https://doi.org/10.1002/cphc.202100276>.
- (9) Chen, H.; Zhang, T.; Tian, Y.; You, L.; Huang, Y.; Wang, S. Food Hydrocolloids Novel Self-Assembling Peptide Hydrogel with PH-Tunable Assembly Microstructure , Gel Mechanics and the Entrapment of Curcumin. *Food Hydrocoll.* **2022**, *124* (PB), 107338. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107338>.
- (10) Zhao, Y.; Yokoi, H.; Tanaka, M.; Kinoshita, T.; Tan, T. Self-Assembled PH-Responsive Hydrogels Composed of the RATEA16 Peptide. **2008**, *16*, 1511–1518.
- (11) Eskandari, S.; Guerin, T.; Toth, I.; Stephenson, R. J. Recent Advances in Self-Assembled Peptides: Implications for Targeted Drug Delivery and Vaccine Engineering. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2017**, *110–111*, 169–187. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.06.013>.
- (12) Skilling, K. J.; Citossi, F.; Bradshaw, T. D.; Ashford, M.; Kellam, B.; Marlow, M. Soft Matter Insights into Low Molecular Mass Organic Gelators : A Focus on Drug Delivery and Tissue Engineering Applications. **2014**, 237–256. <https://doi.org/10.1039/c3sm52244j>.
- (13) Article, R. Characterization of Supramolecular Gels. **2013**, 6697–6722. <https://doi.org/10.1039/c3cs60080g>.
- (14) Nebot, V. J.; Armengol, J.; Smets, J.; Prieto, S. F.; Escuder, B.; Miravet, J. F. Molecular Hydrogels from Bolaform Amino Acid Derivatives: A Structure-Properties Study Based on the Thermodynamics of Gel Solubilization. *Chem. - A Eur. J.* **2012**, *18* (13), 4063–4072. <https://doi.org/10.1002/chem.201103193>.
- (15) Angulo-Pachón, C. A.; Miravet, J. F. Sucrose-Fueled, Energy Dissipative, Transient Formation of Molecular Hydrogels Mediated by Yeast Activity. *Chem. Commun.*

- 2016**, 52 (31), 5398–5401. <https://doi.org/10.1039/c6cc01183g>.
- (16) Angulo-Pachón, C. A.; Díaz-Oltra, S.; Ojeda-Flores, J. J.; Falomir, E.; Galindo, F.; Miravet, J. F. Self-Assembled Nanofibrillar Networks: Boosting Hydrogelation Efficiency by Replacement of a Pyridine Moiety by a Quinoline One. *ChemNanoMat* **2018**, 4 (8), 769–771. <https://doi.org/10.1002/cnma.201800219>.

ANEXOS.

1. Espectros RMN.

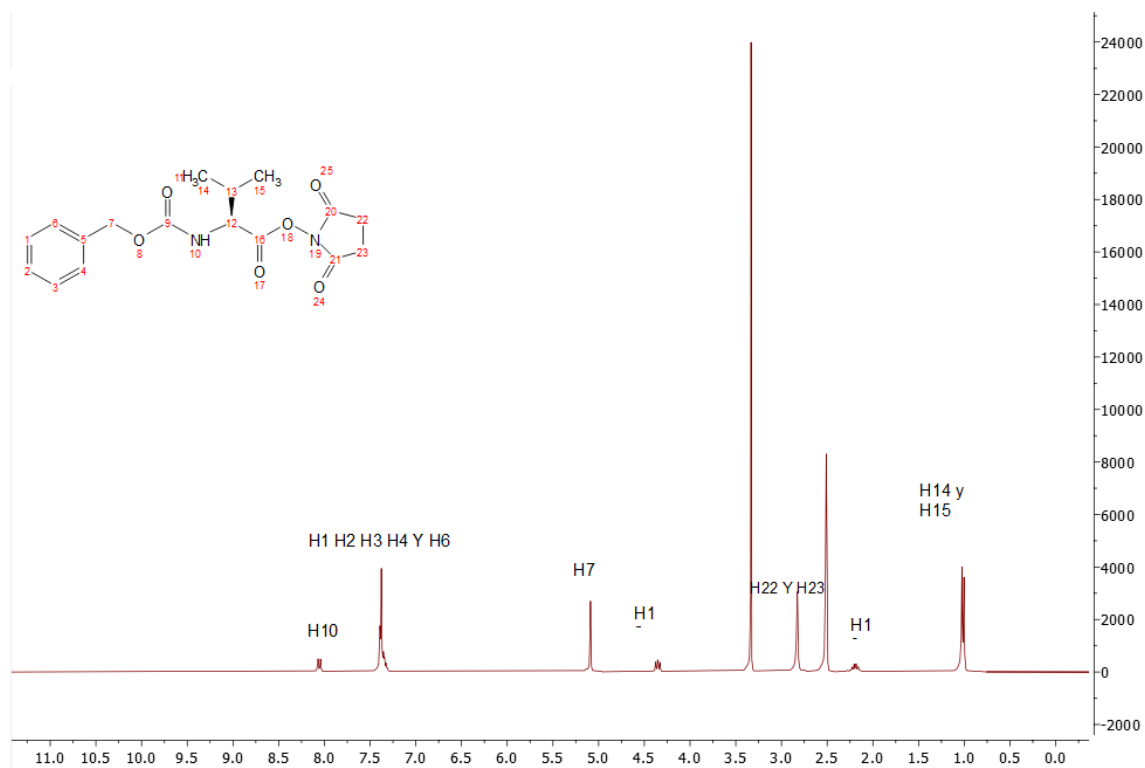
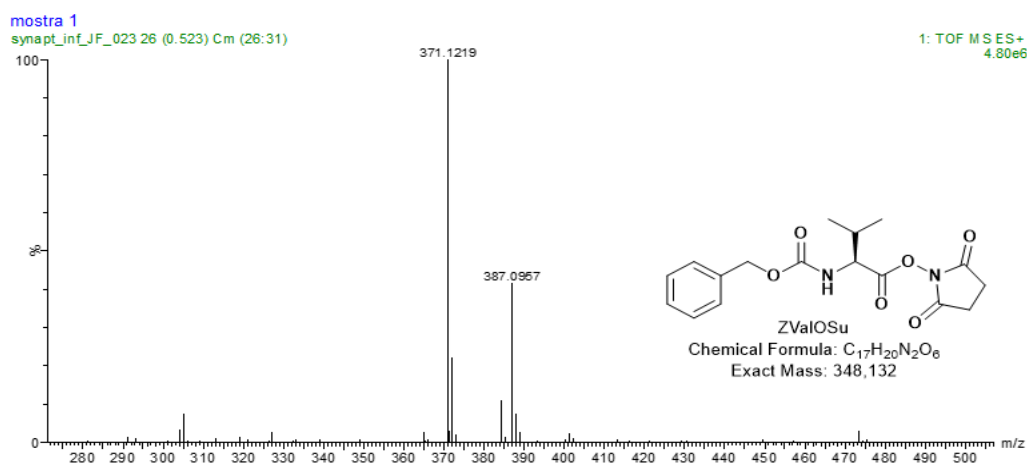


Figura A1 ^1H RMN de ZValOSu en DMSO-d_6 .



$[\text{M}+\text{Na}]^+=371.1219$
 $[\text{M}+\text{Na}]^+=371.1219$ (0.0 ppm)

Figura A2 Espectro de masas de ZValOSu.

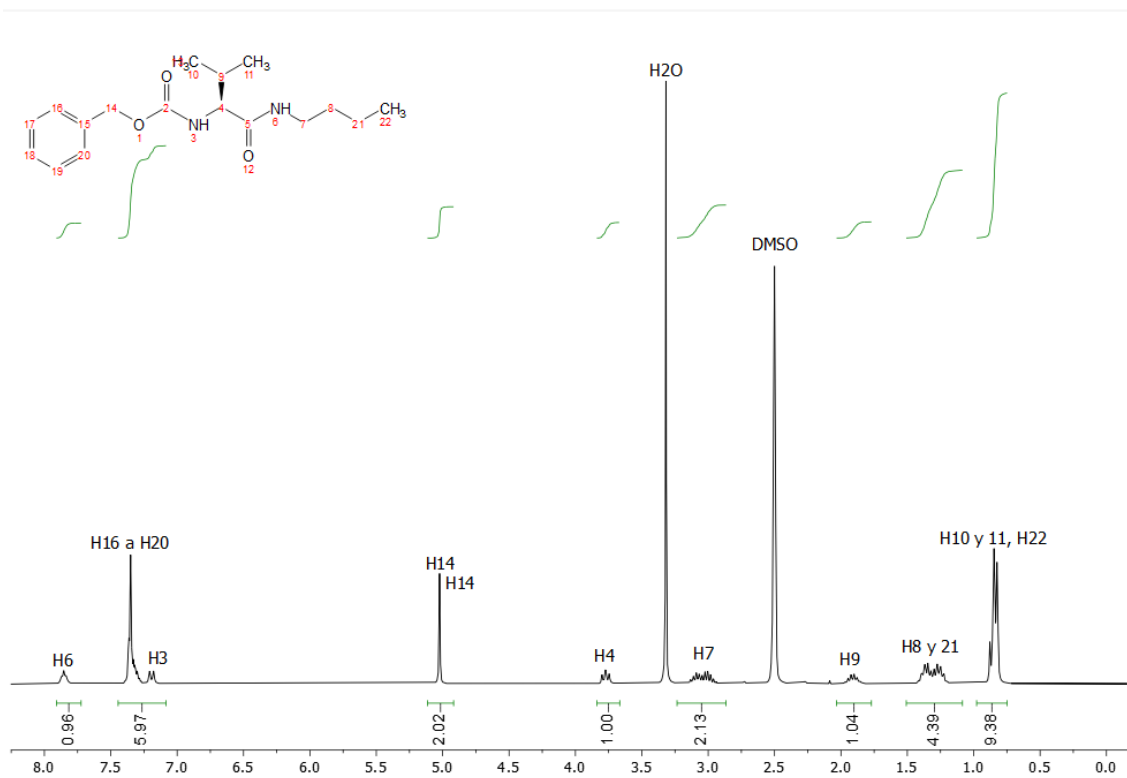


Figura A3 ^1H RMN de ZValC4 en DMSO-d₆.

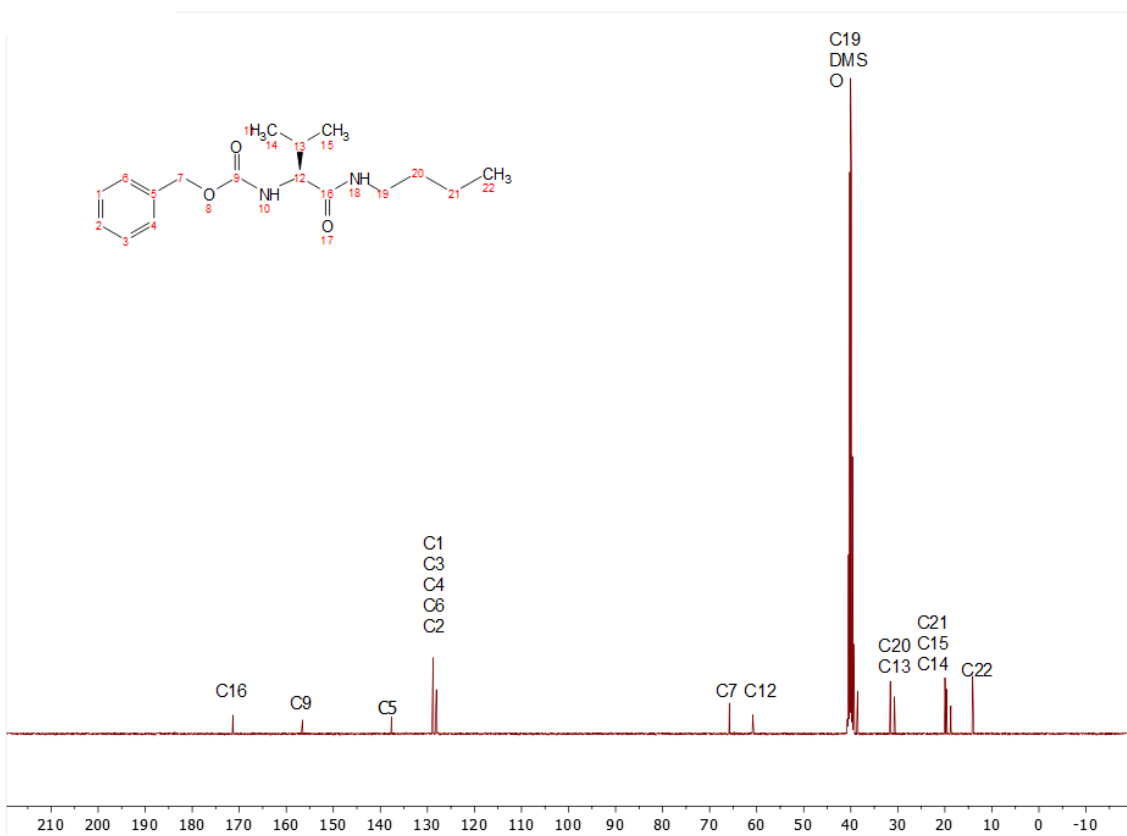


Figura A4 ^{13}C RMN de ZValC4 en DMSO-d₆.

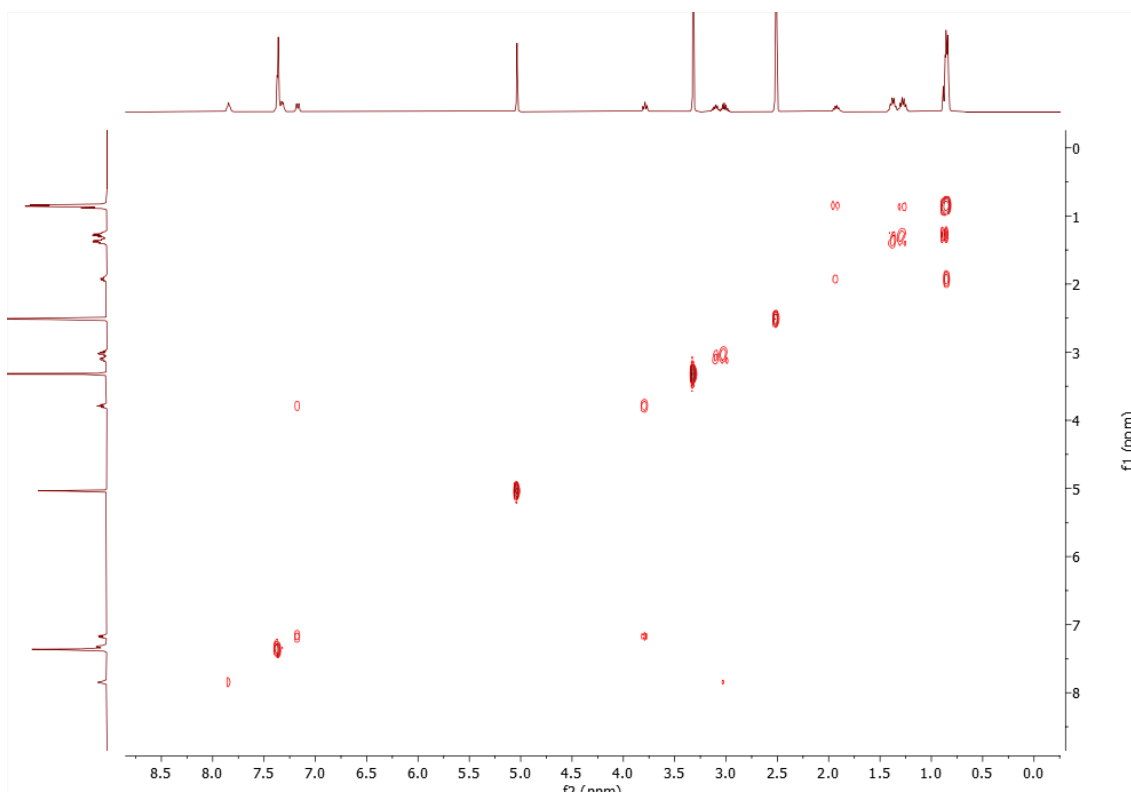


Figura A5 Espectro COSY de ZValC4 en DMSO-d6.

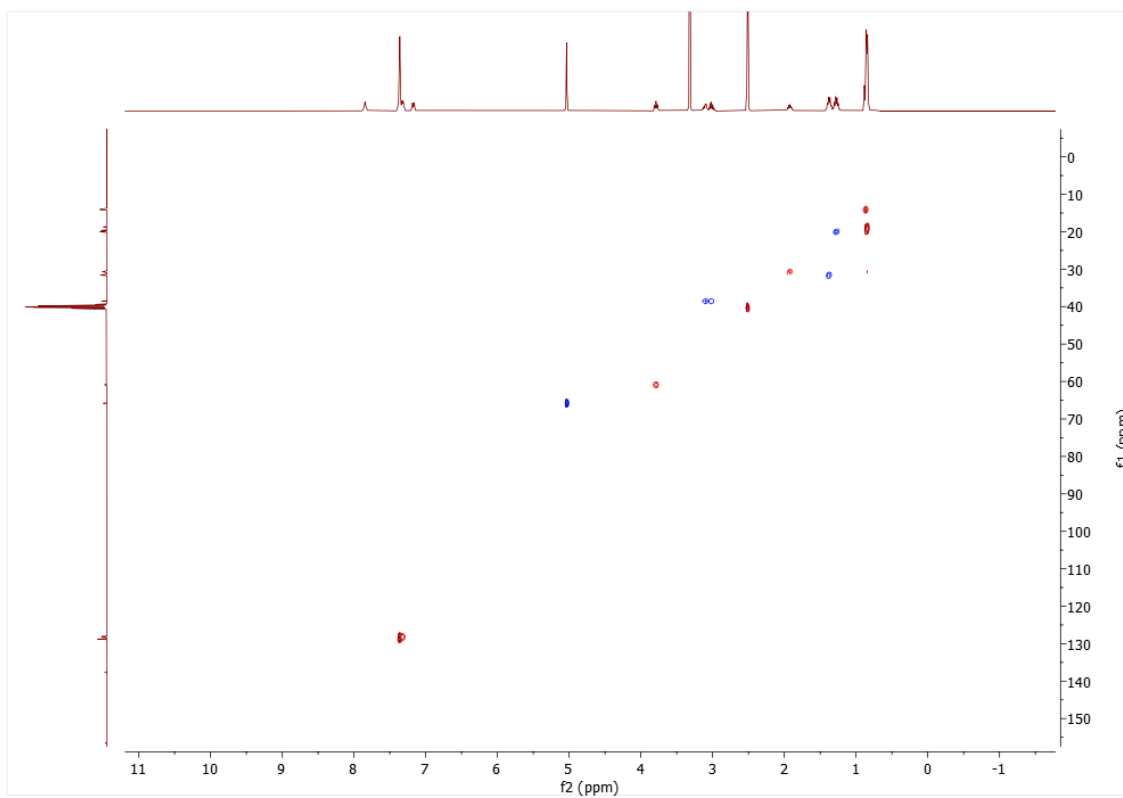
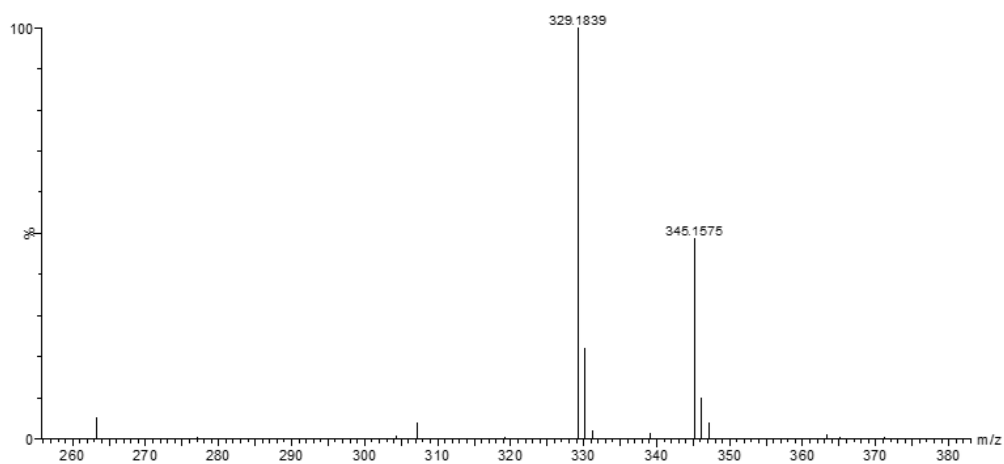


Figura A6 Espectro HSQC de ZValC4 en DMSO-d6.



[M+Na]⁺=329.1841
[M+Na]⁺=323.1839 (0.6 ppm)

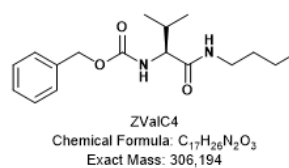


Figura A7 Espectro de masas de ZValC4.

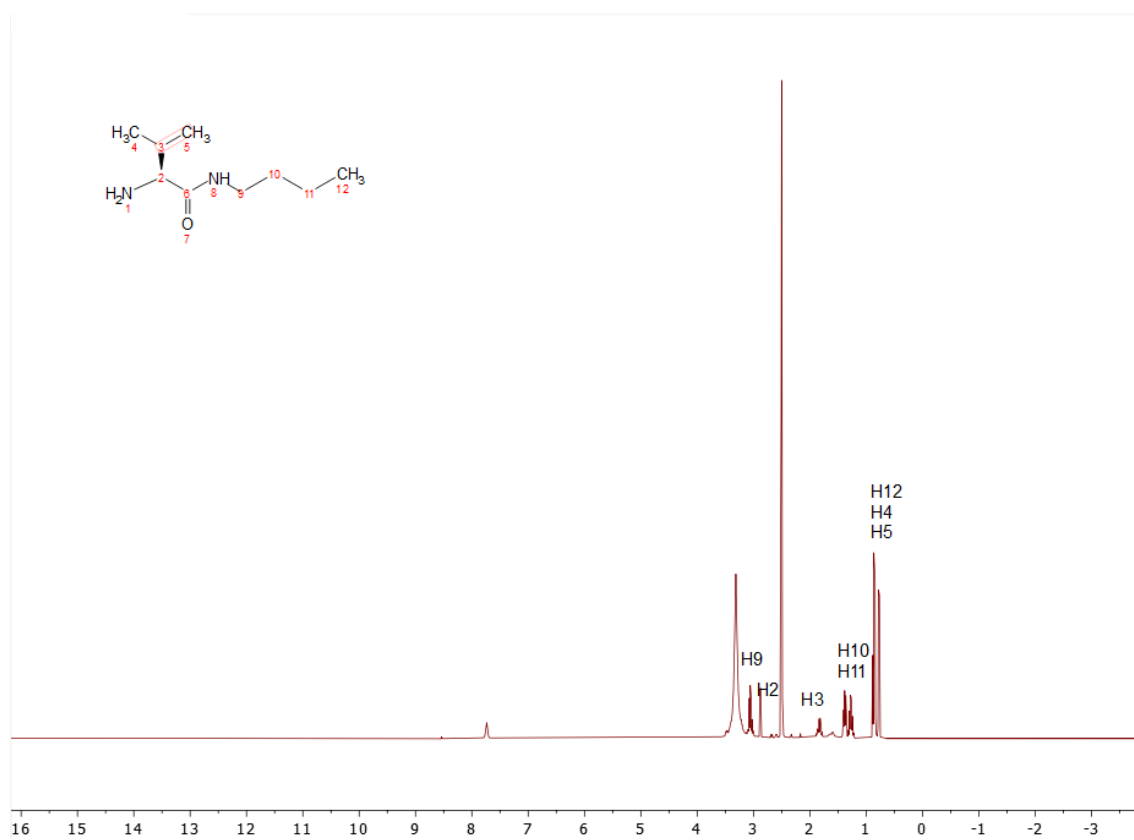


Figura A8 ¹H RMN de HValC4 en DMSO-d₆.

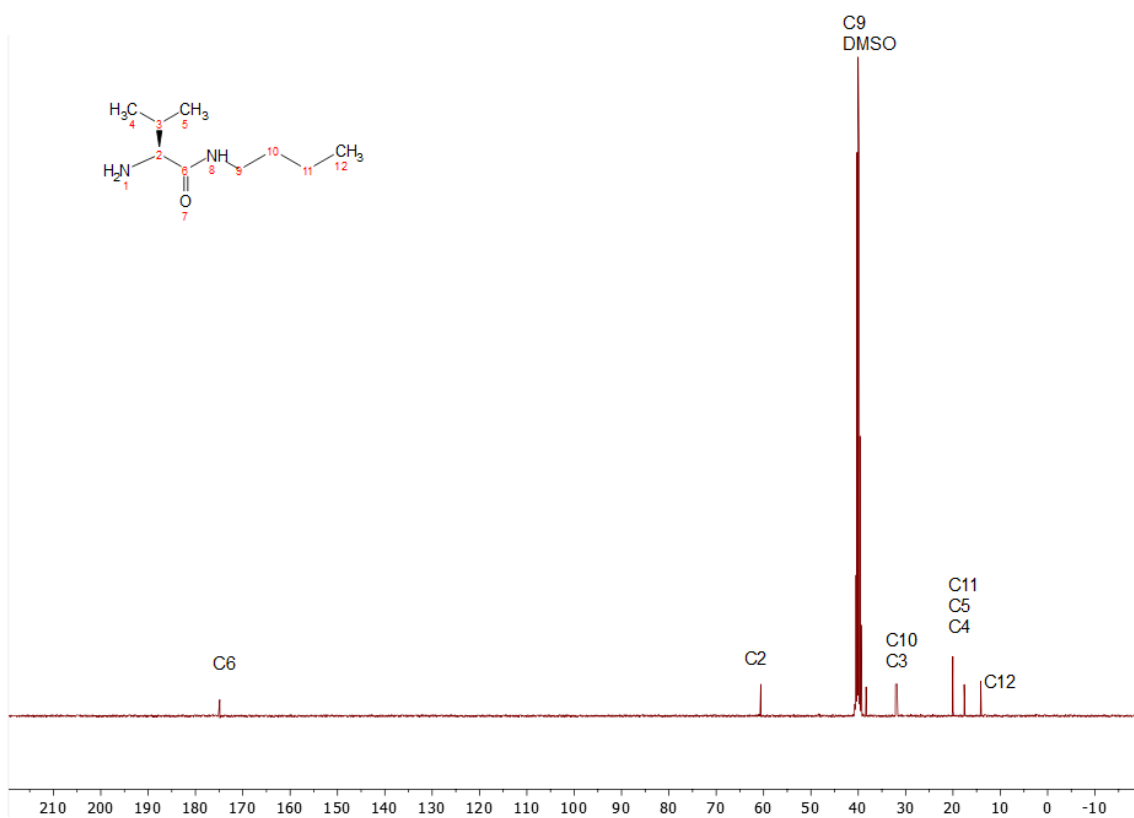


Figura A9 ¹³C RMN de HValC4 en DMSO-d₆.

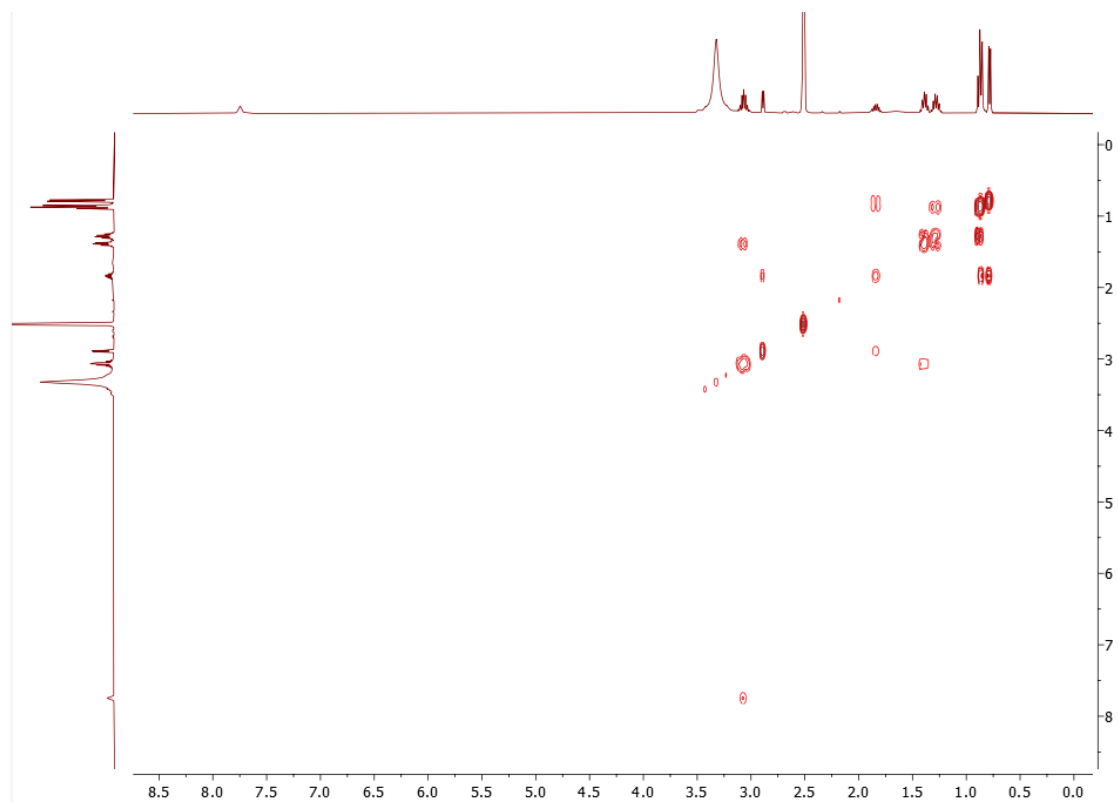


Figura A10 Espectro COSY de HValC4.

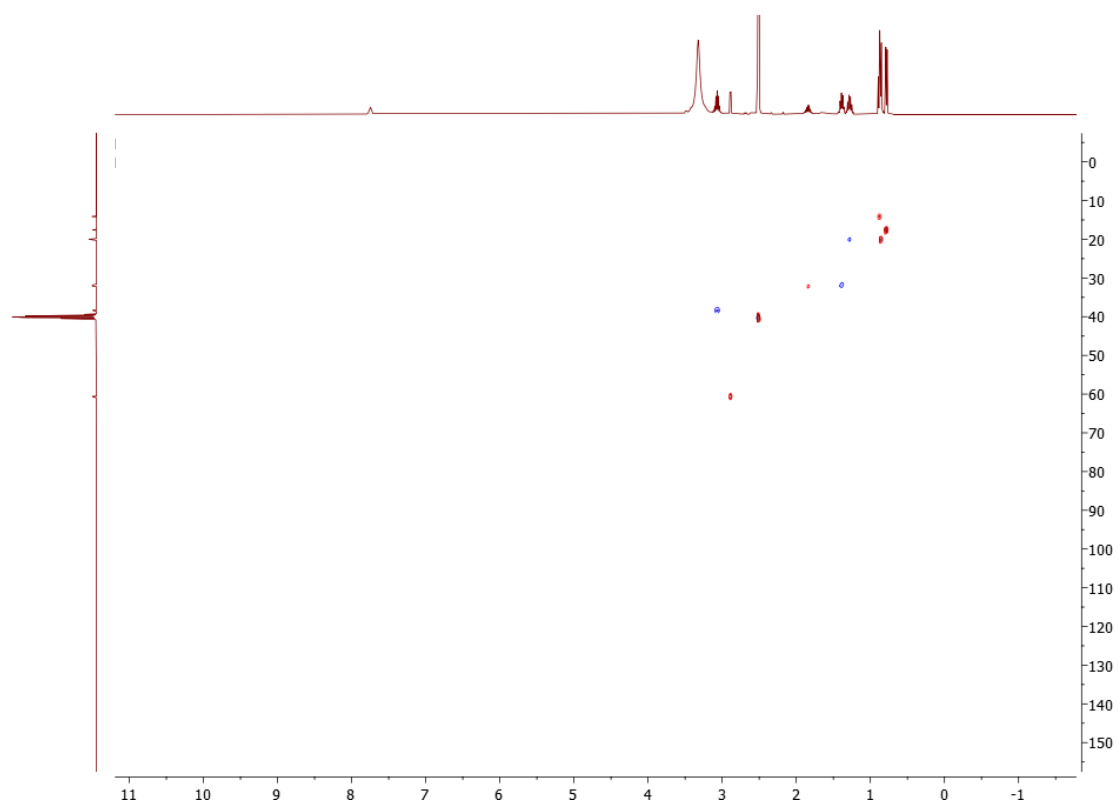
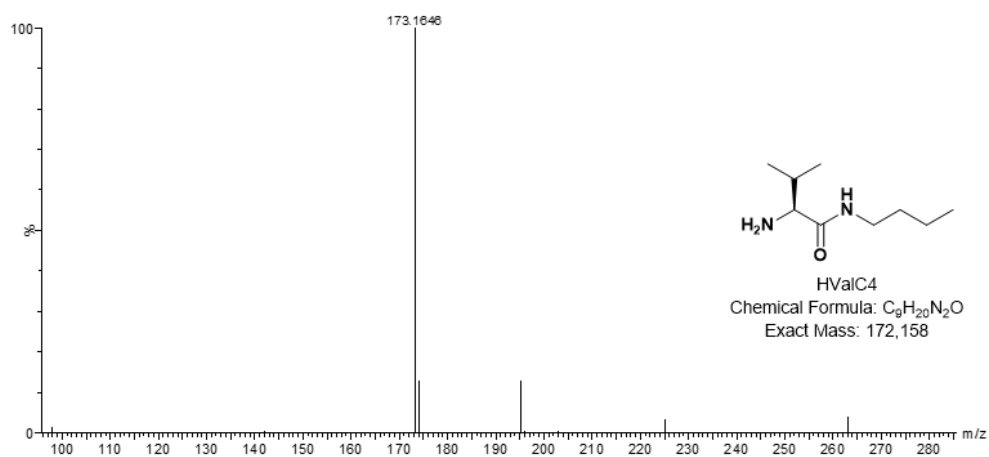


Figura A11 HSQC de HValC4.



[M+H]⁺=173.1654
 [M+H]⁺=173.1646 (4.6 ppm)

Figura A12 Espectro de masas de HValC4

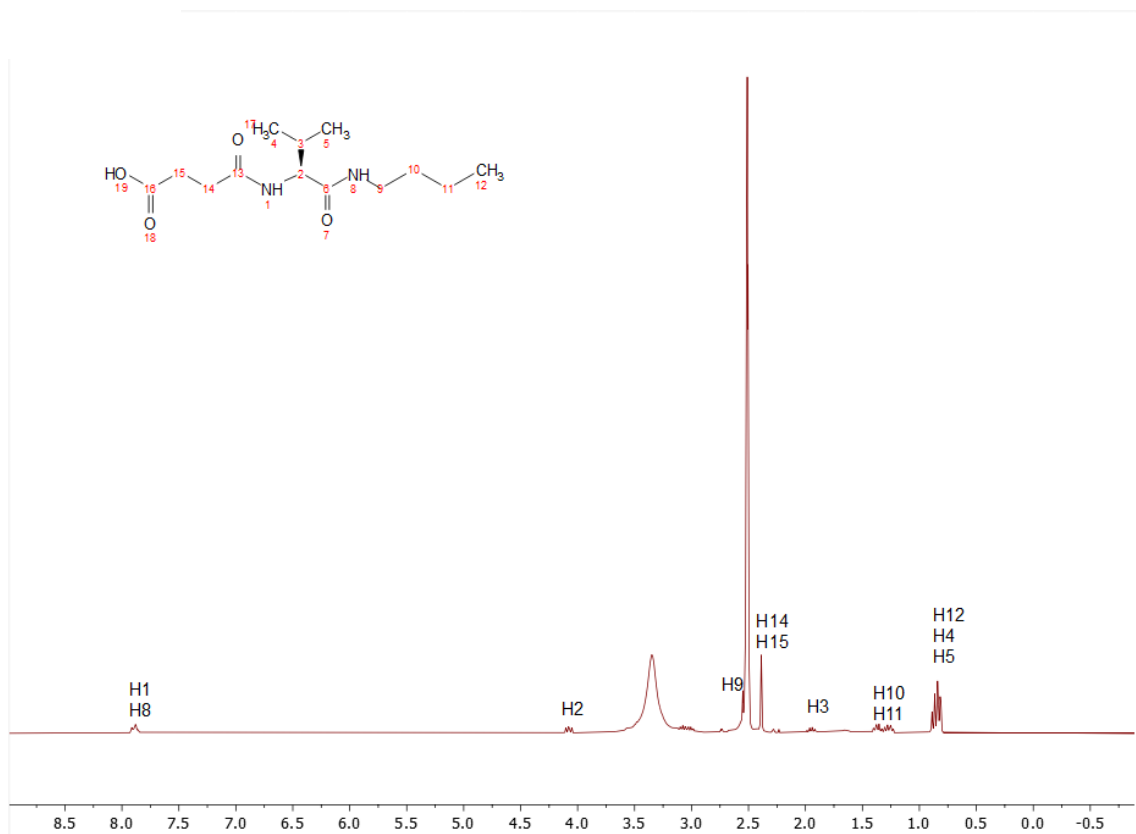


Figura A13 ¹H RMN de SucValC4 en DMSO-d₆.

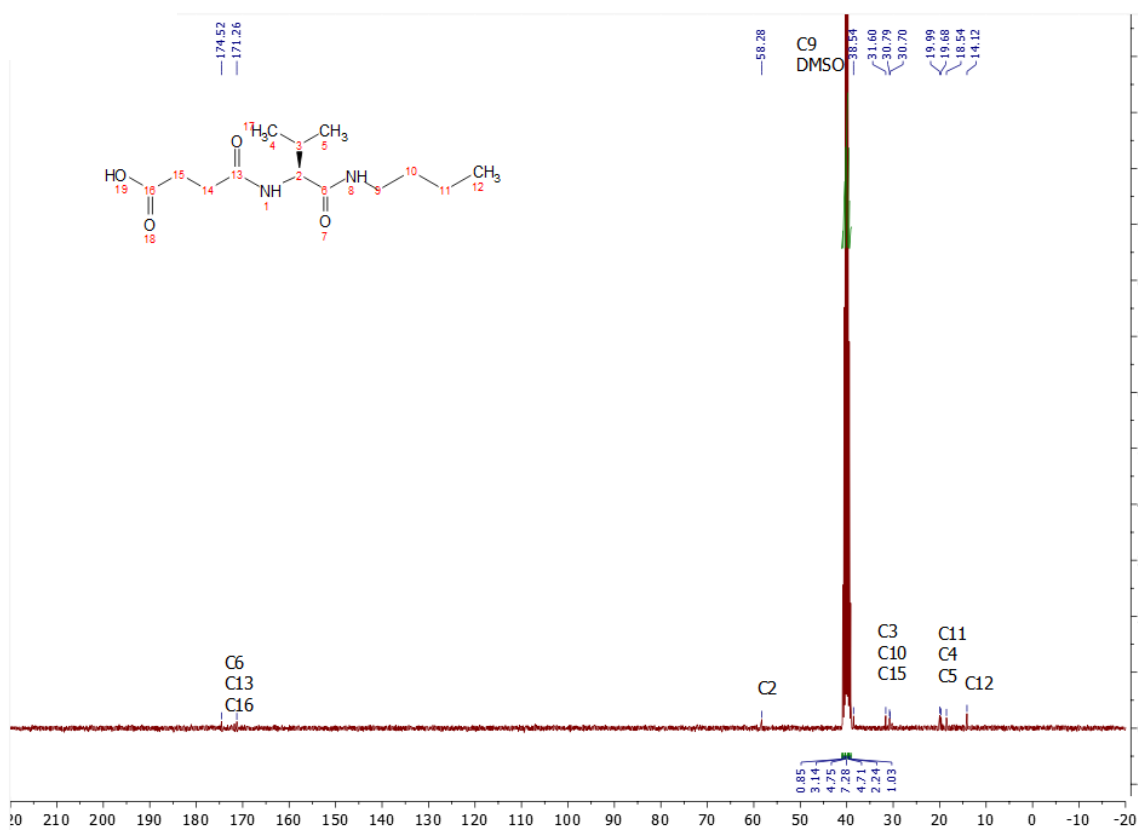


Figura A14 ¹³C RMN de SucValC4 en DMSO-d₆.

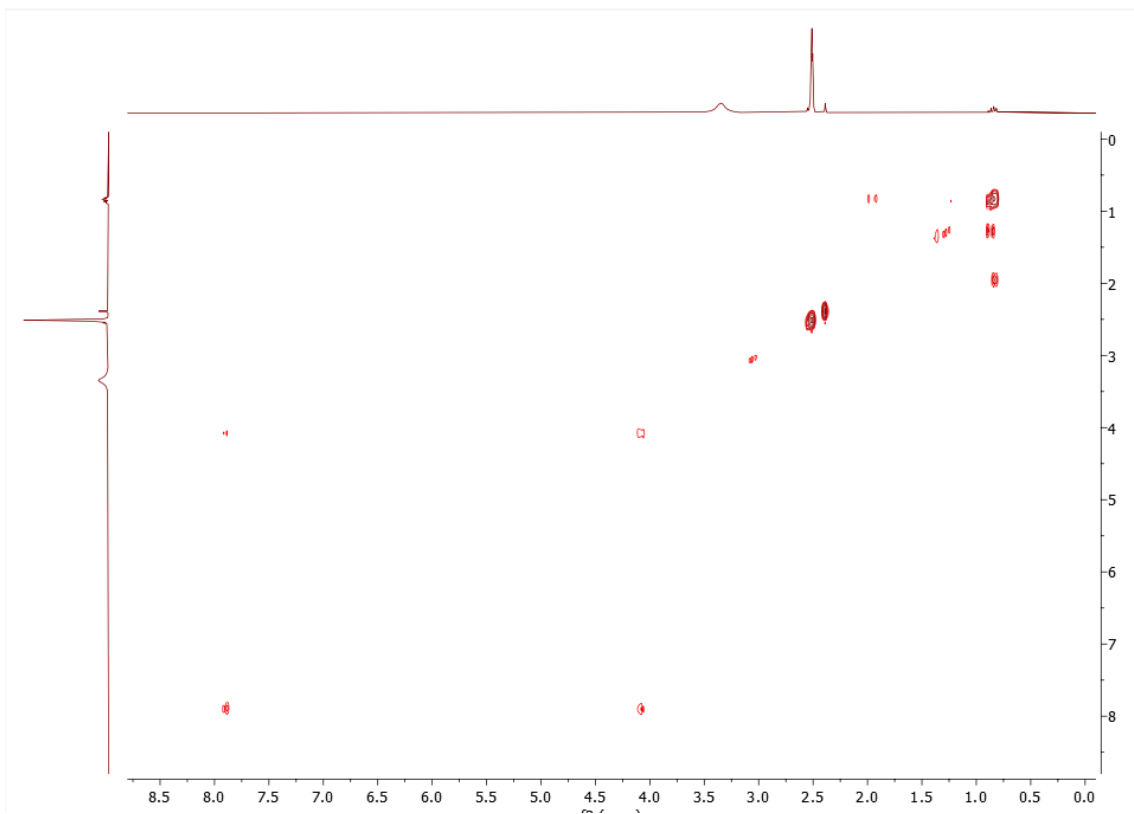


Figura A15 Espectro COSY de SucValC4.

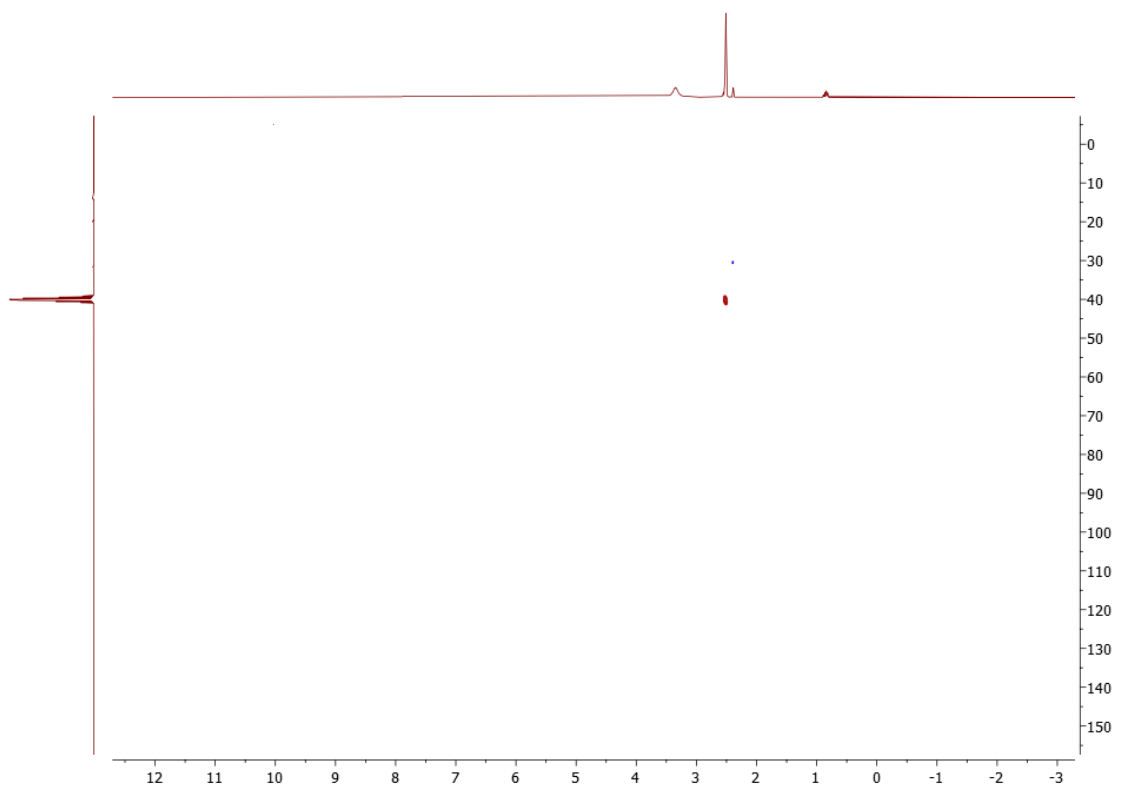
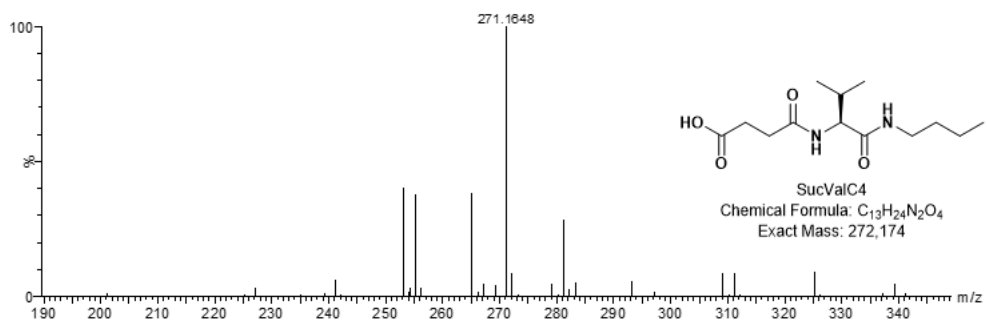


Figura A16 Espectro HSQC de SucValC4.



[M-H]⁻=271.1658
[M-H]⁻=271.1648 (3.7 ppm)

Figura A17 Espectro de masas de SucValC4.

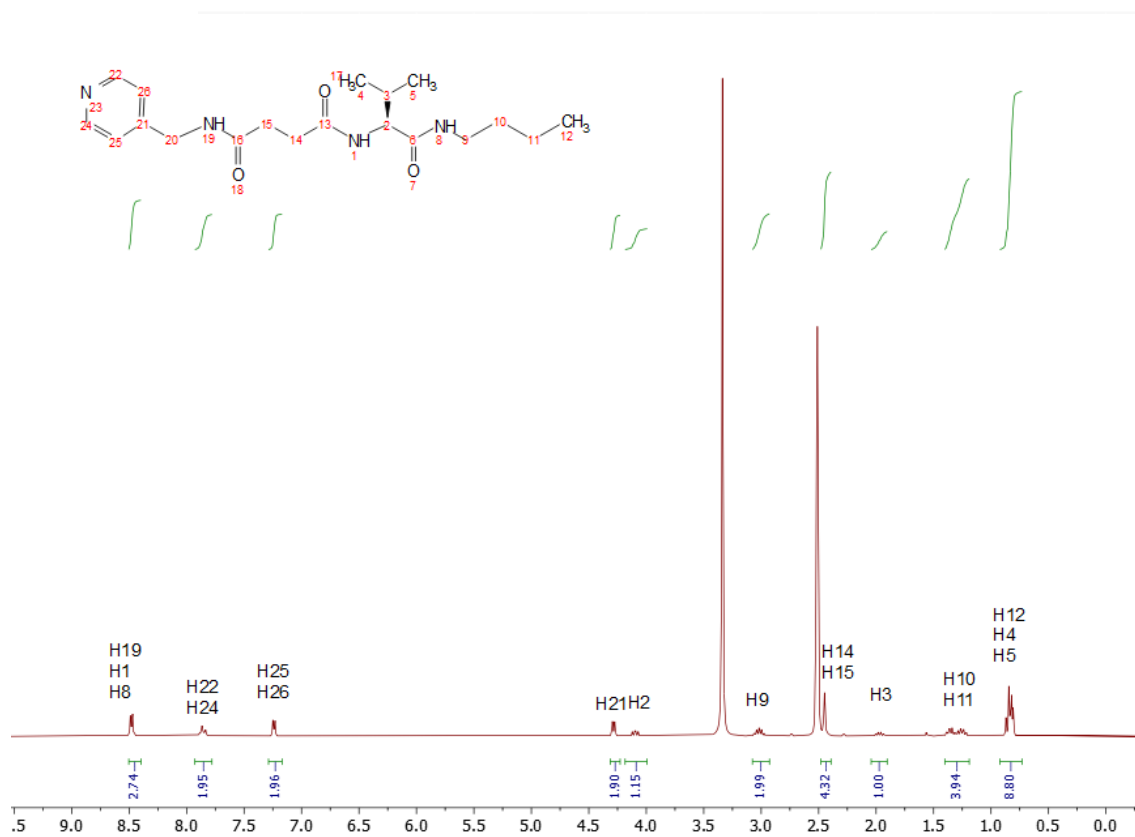


Figura A18 ¹H RMN de P4SucValC4 en DMSO-d₆.

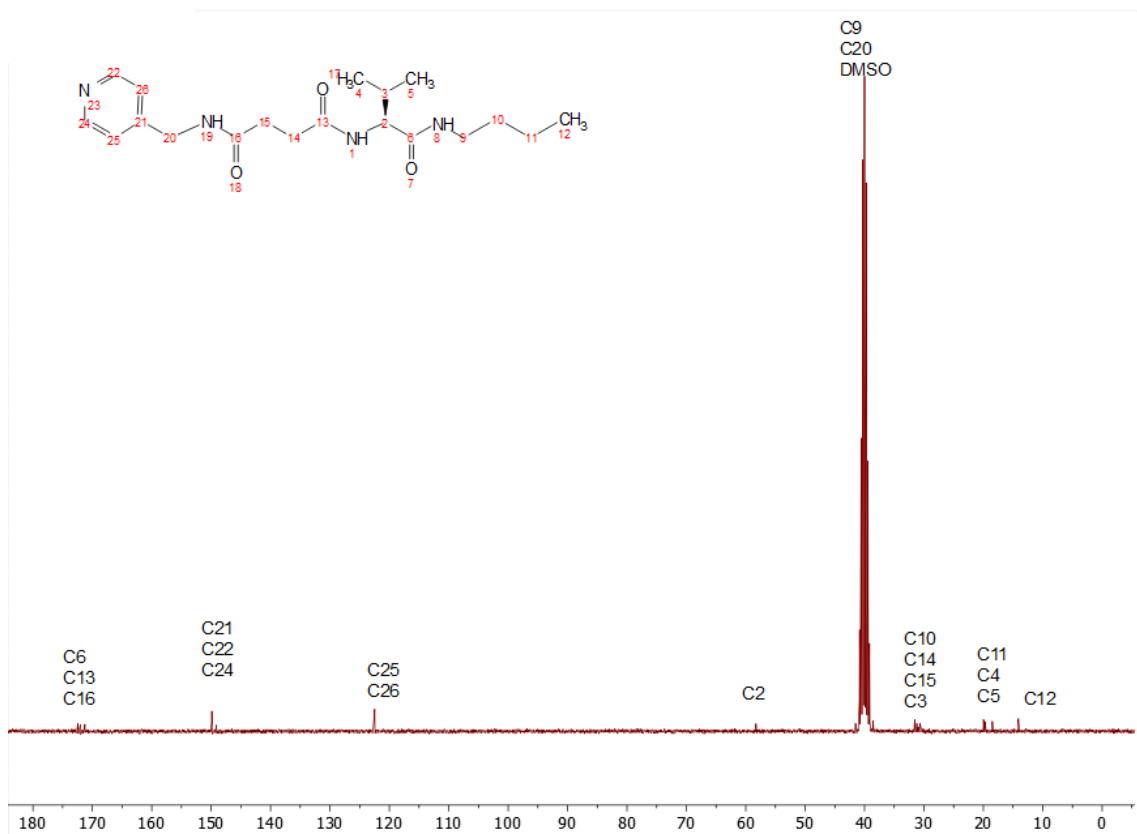


Figura A19 ^{13}C RMN de P4SucValC4 en DMSO-d6.

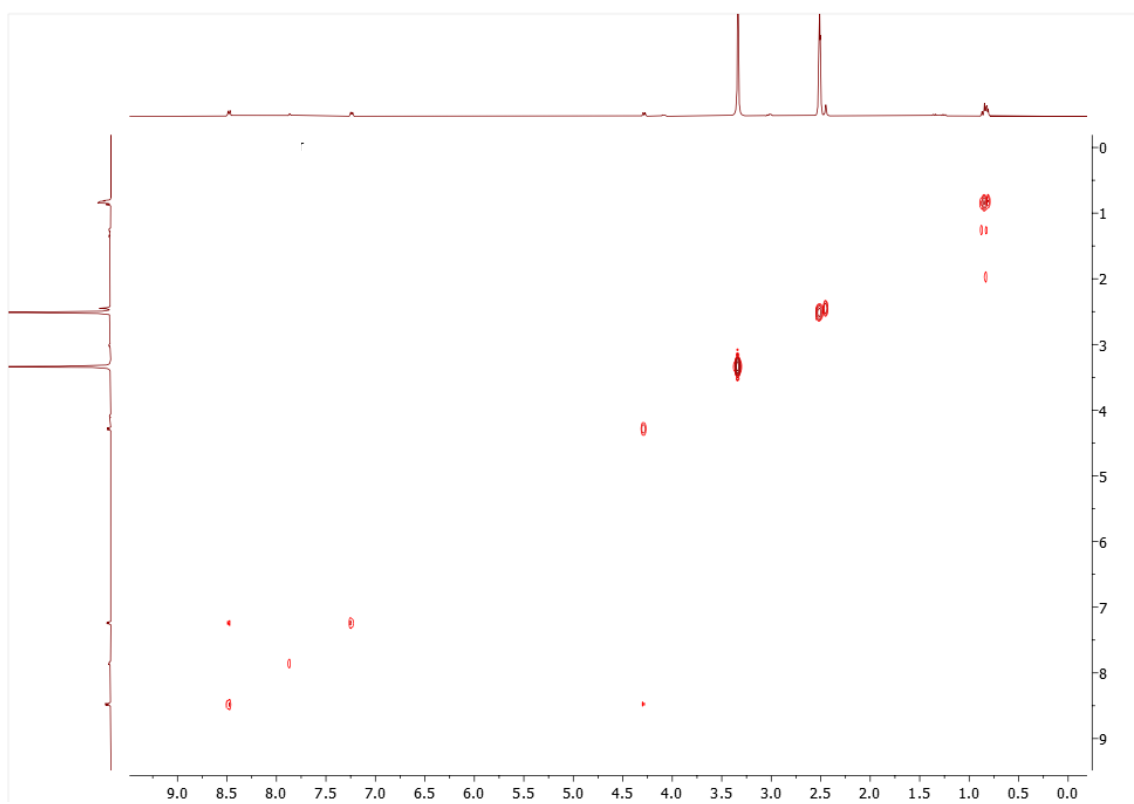


Figura A20 Espectro COSY de P4SucValC4.

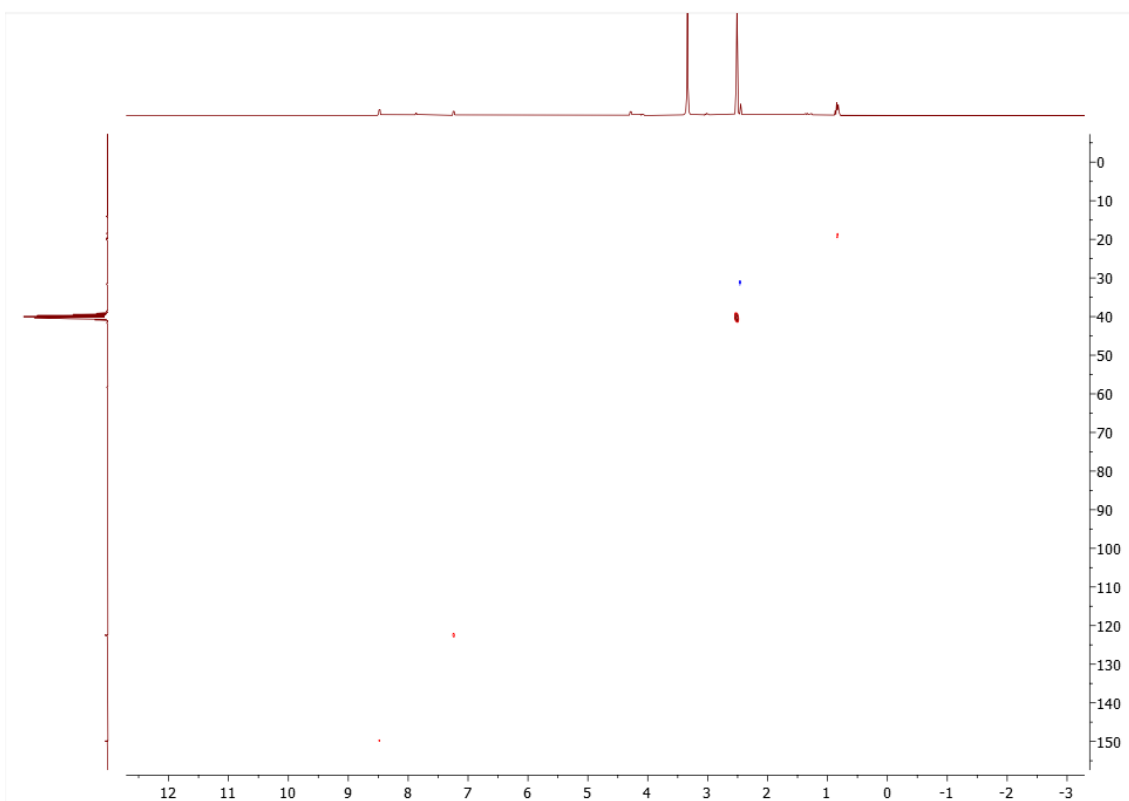
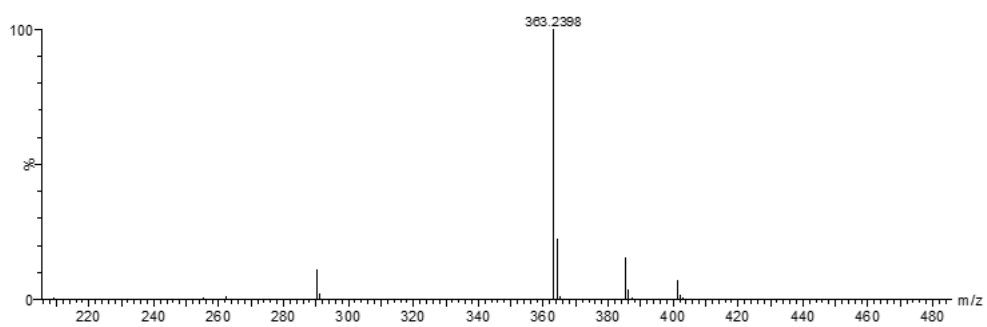
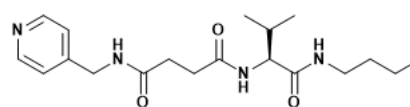


Figura A21 HSQC de P4SucValC4.



[M+H]⁺=363.2396
 [M+H]⁺=363.2398 (0.6 ppm)



P4SucValC4
 Chemical Formula: C₁₉H₃₀N₄O₃
 Exact Mass: 362.232

Figura A22 Espectro de masas de P4SucValC4.

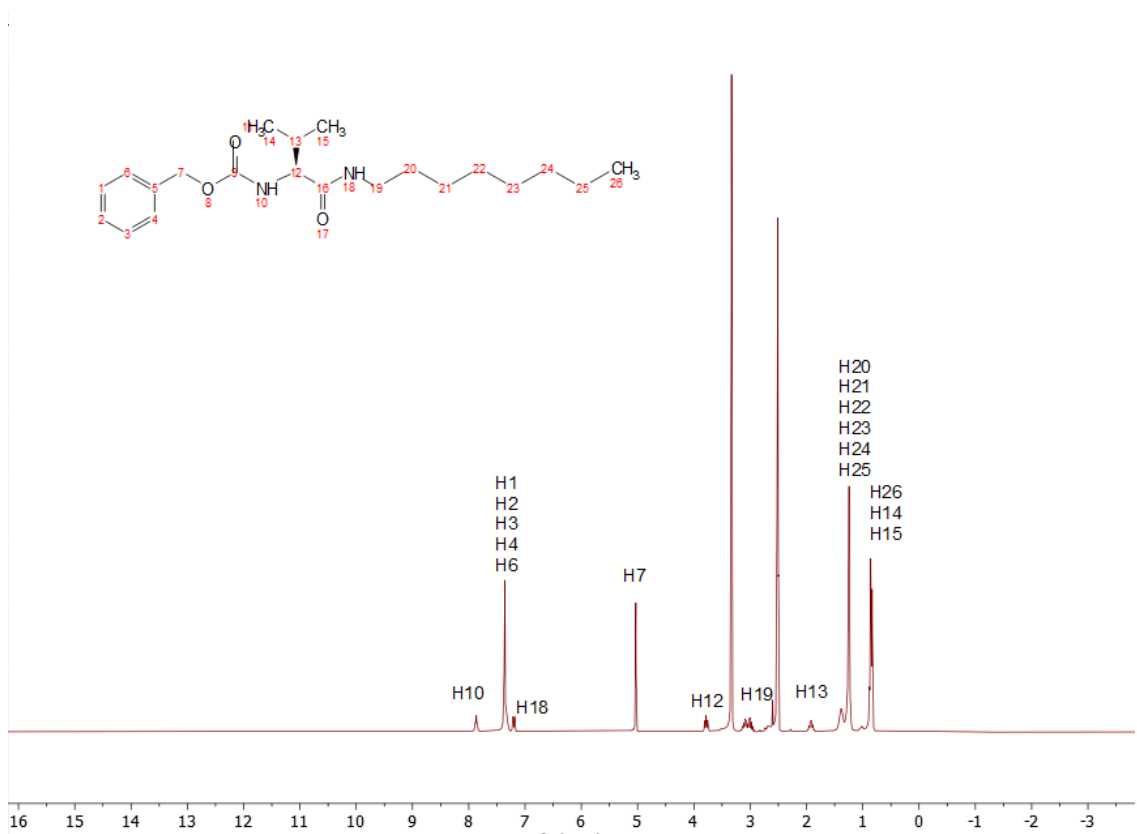


Figura A23 ¹H RMN de ZValC8 en DMSO-d₆.

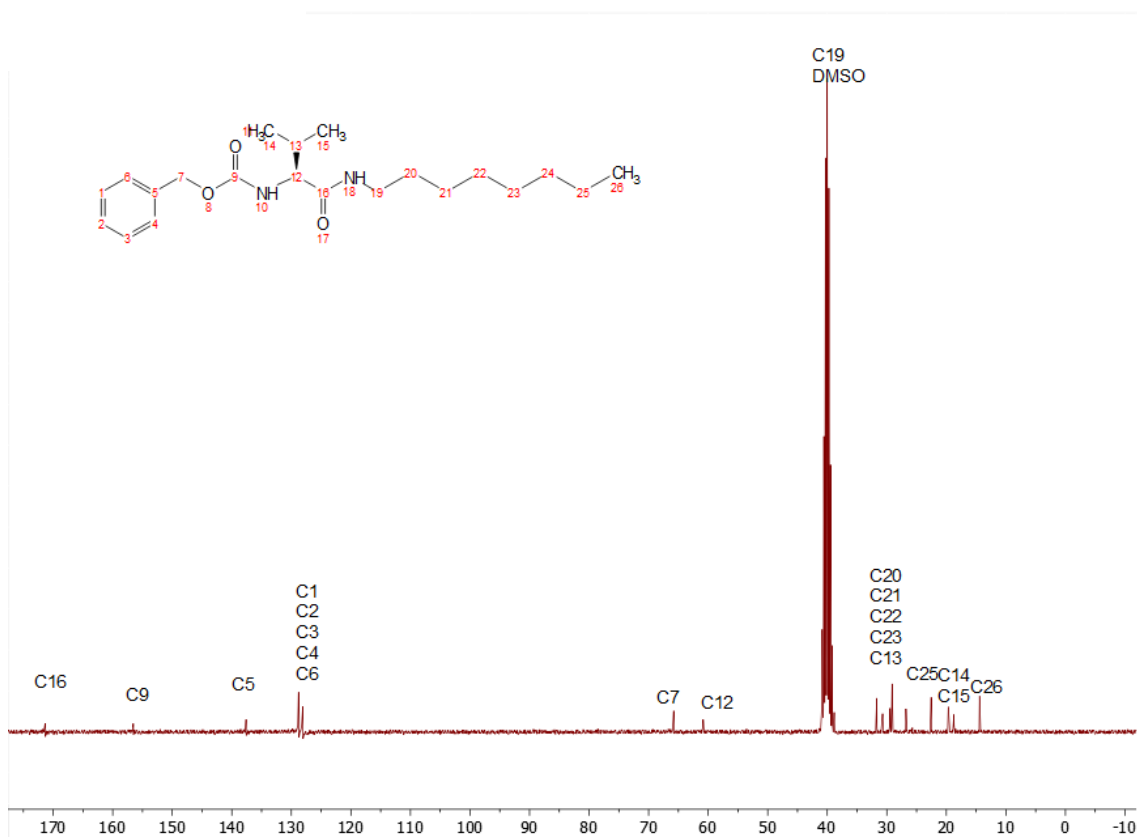


Figura A24 ¹³C RMN de ZValC8 en DMSO-d₆.

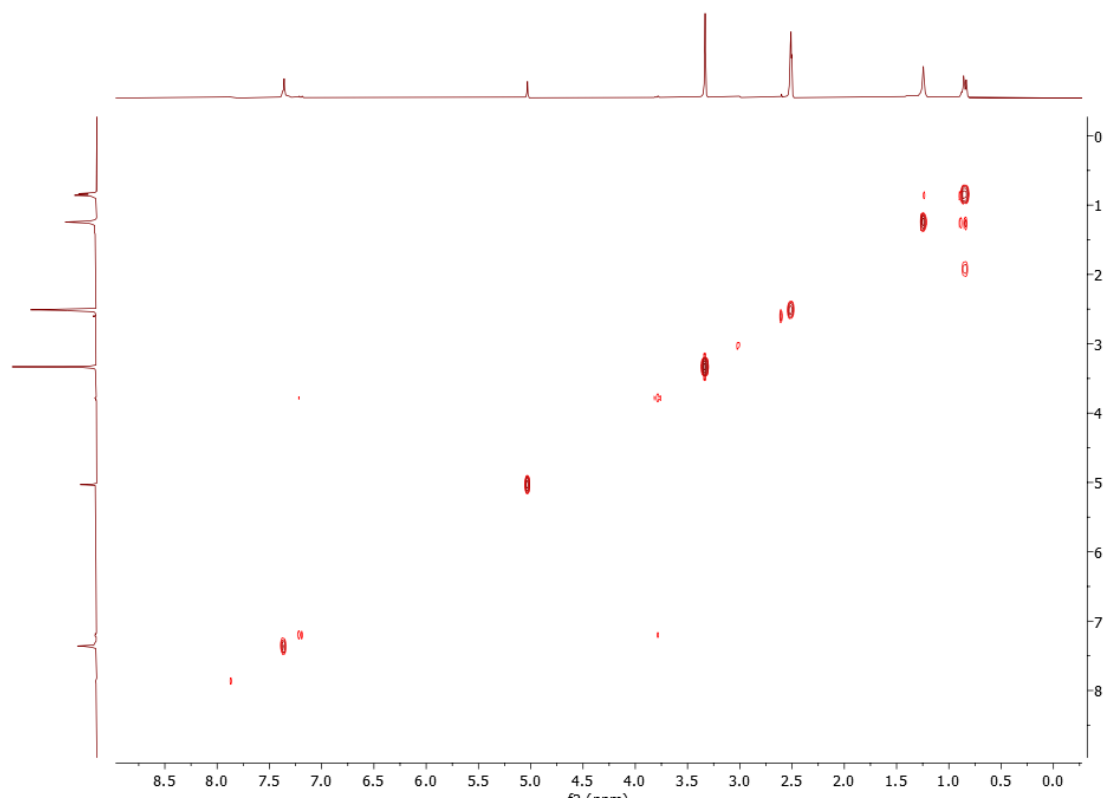


Figura A25 Espectro COSY de ZValc8.

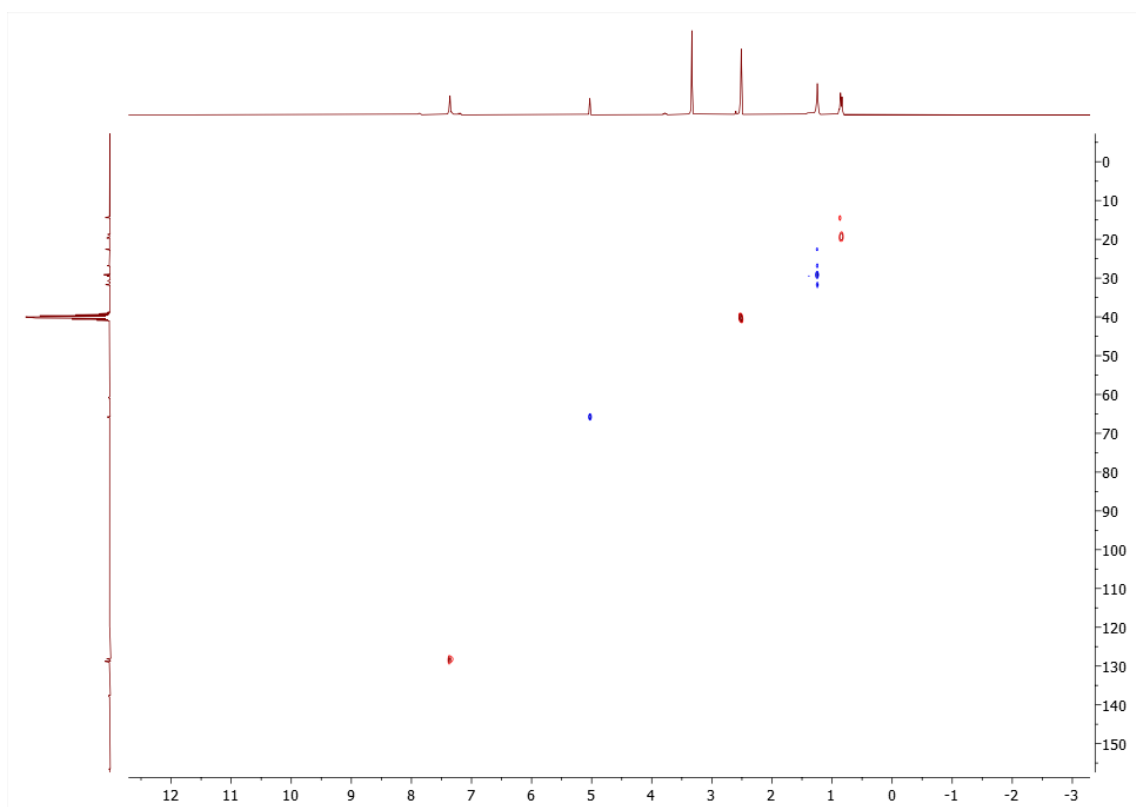
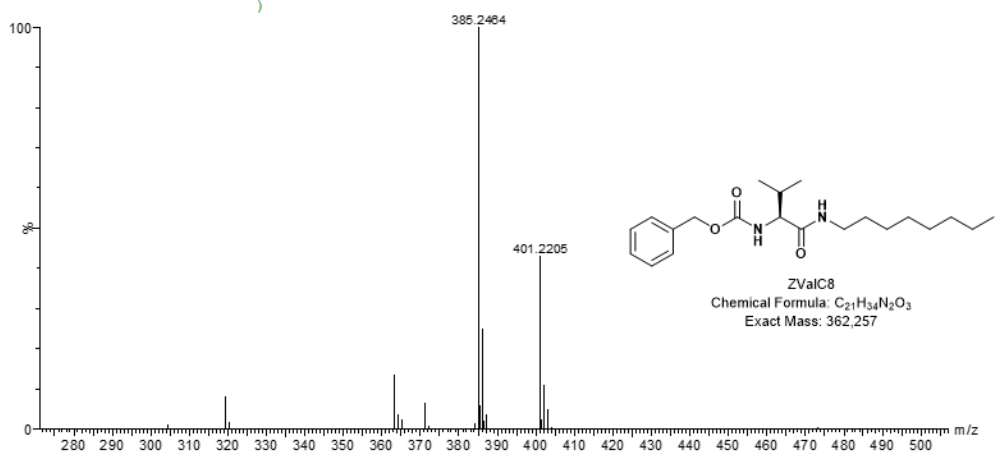


Figura A26 Espectro HSQC de ZValc8.



$[M+Na]^+ = 385.2467$
 $[M+Na]^+ = 385.2464$ (0.8 ppm)

Figura A27 Espectro de masas de ZValC8.

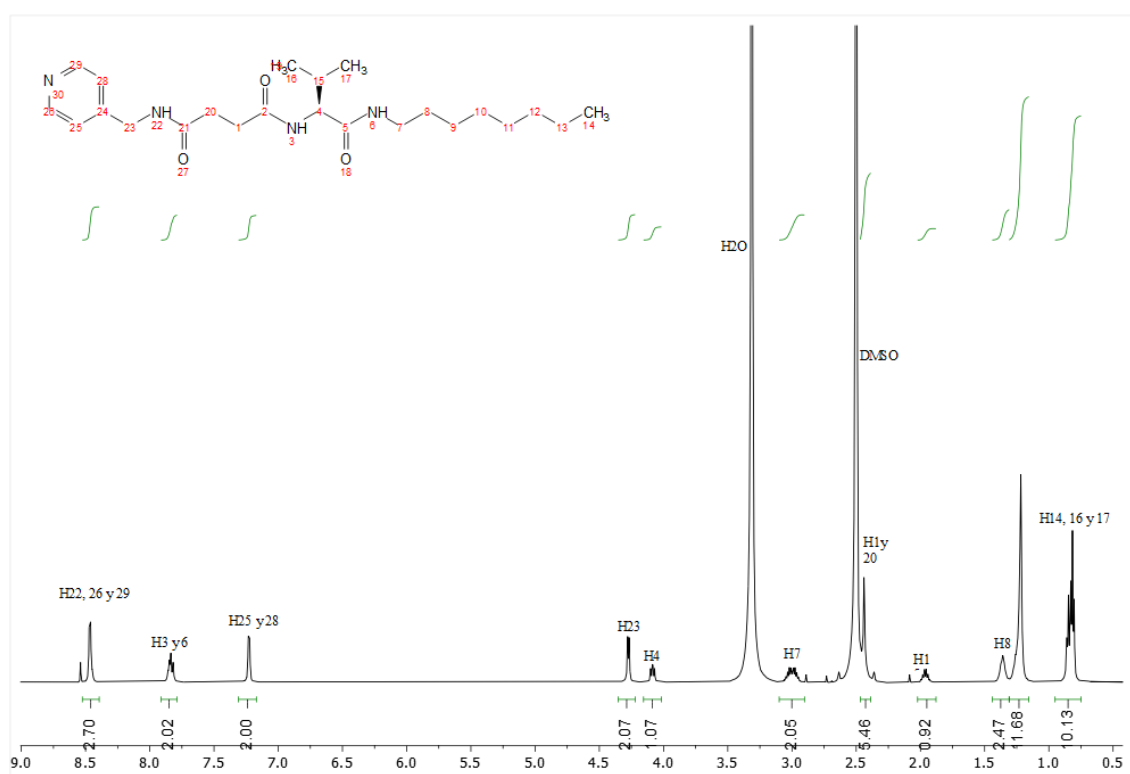


Figura A28 ¹H RMN de P4SucValC8 en DMSO-d₆.

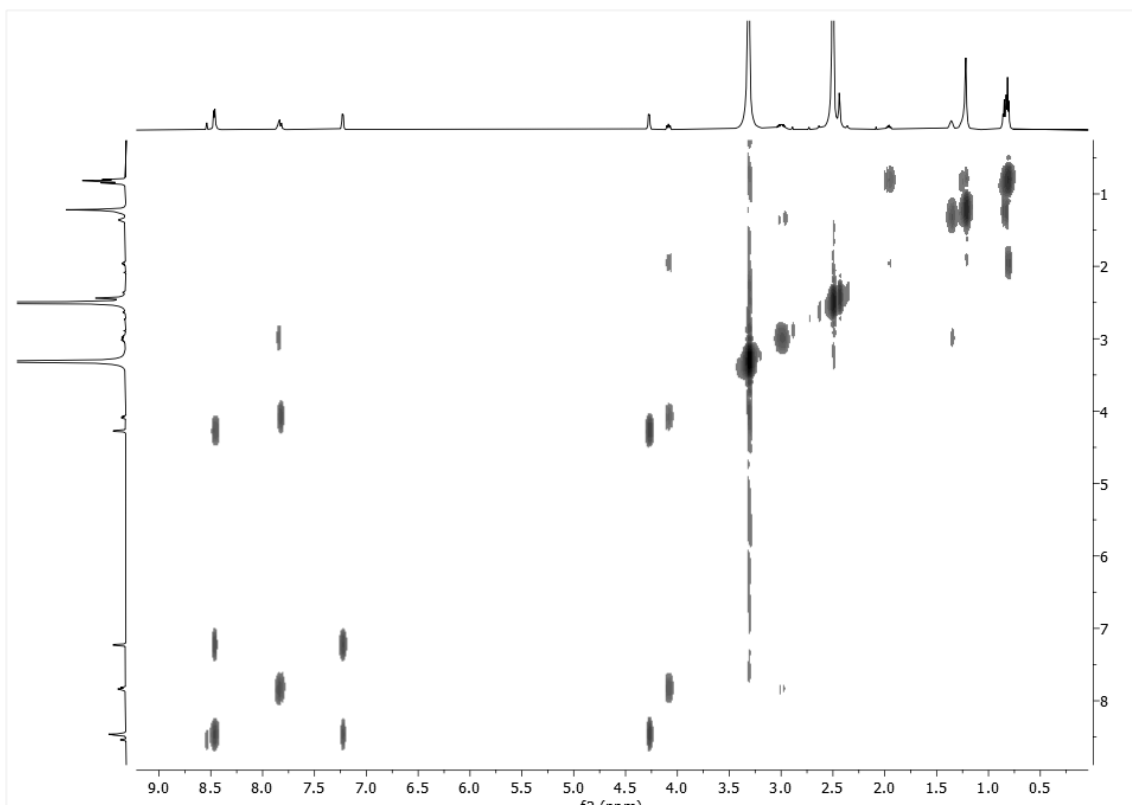
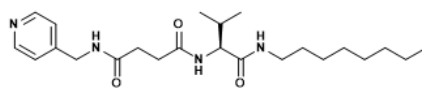
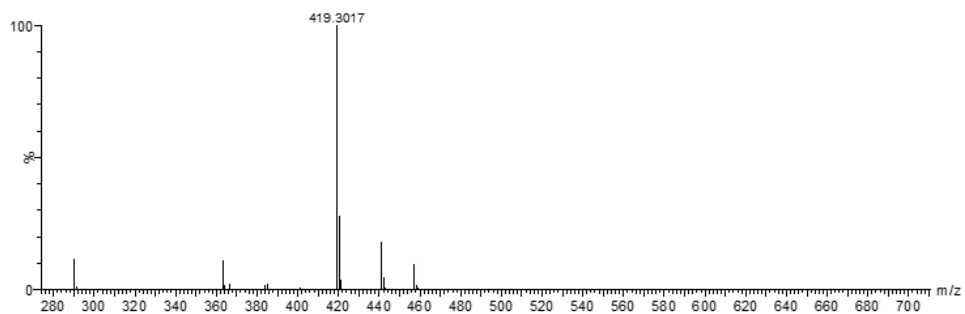


Figura A29 Espectro COSY de P4SucValC8.



[M+H]⁺=419.3022
 [M+H]⁺=419.3017 (1.2 ppm)

P4SucValC8
 Chemical Formula: C₂₃H₃₈N₄O₃
 Exact Mass: 418.294

Figura A30 Espectro de masas de P4SucValC8.

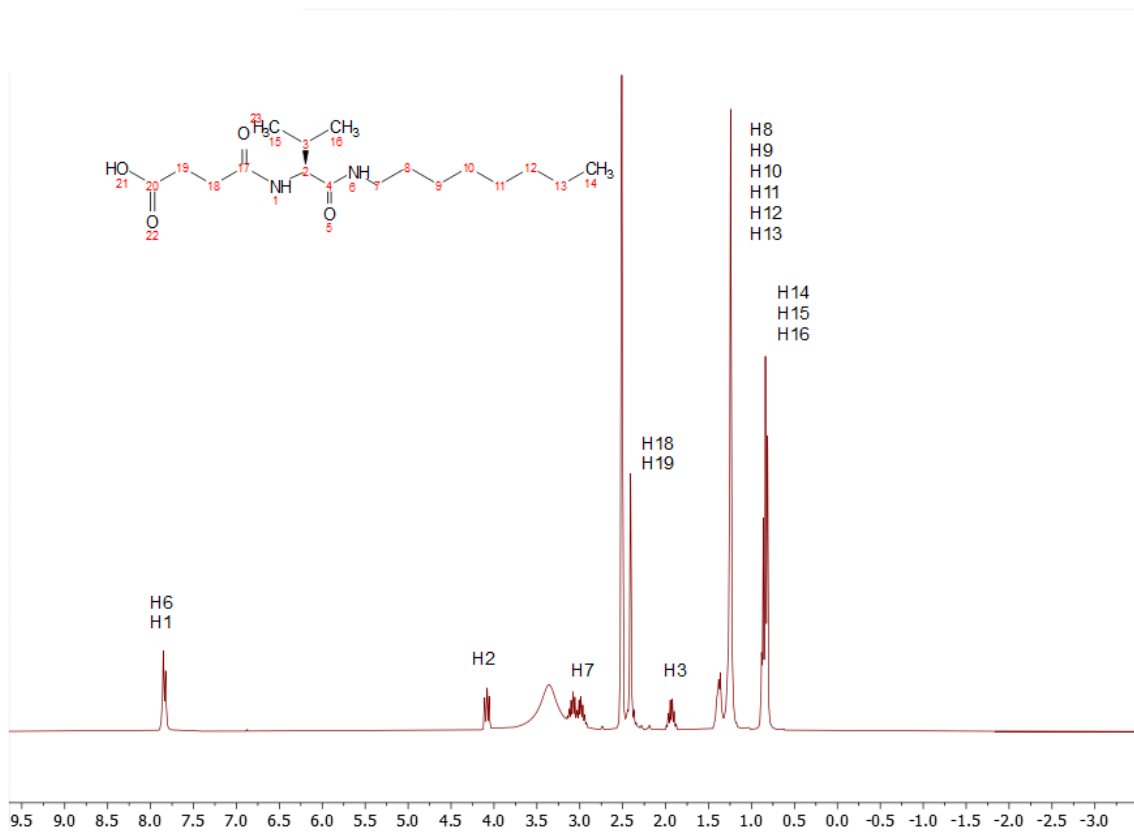


Figura A31 ¹H RMN de SucValC8 en DMSO-d₆.

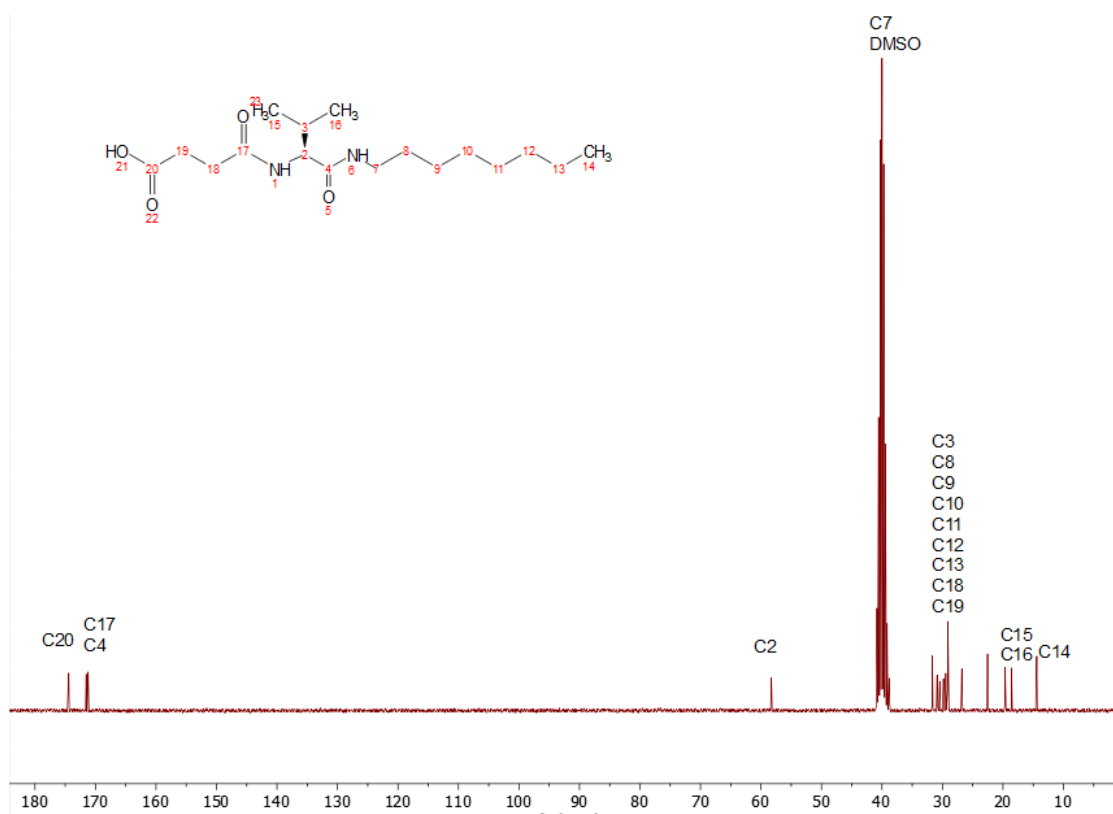


Figura A32 ¹³C RMN de SucValC8 en DMSO-d₆.

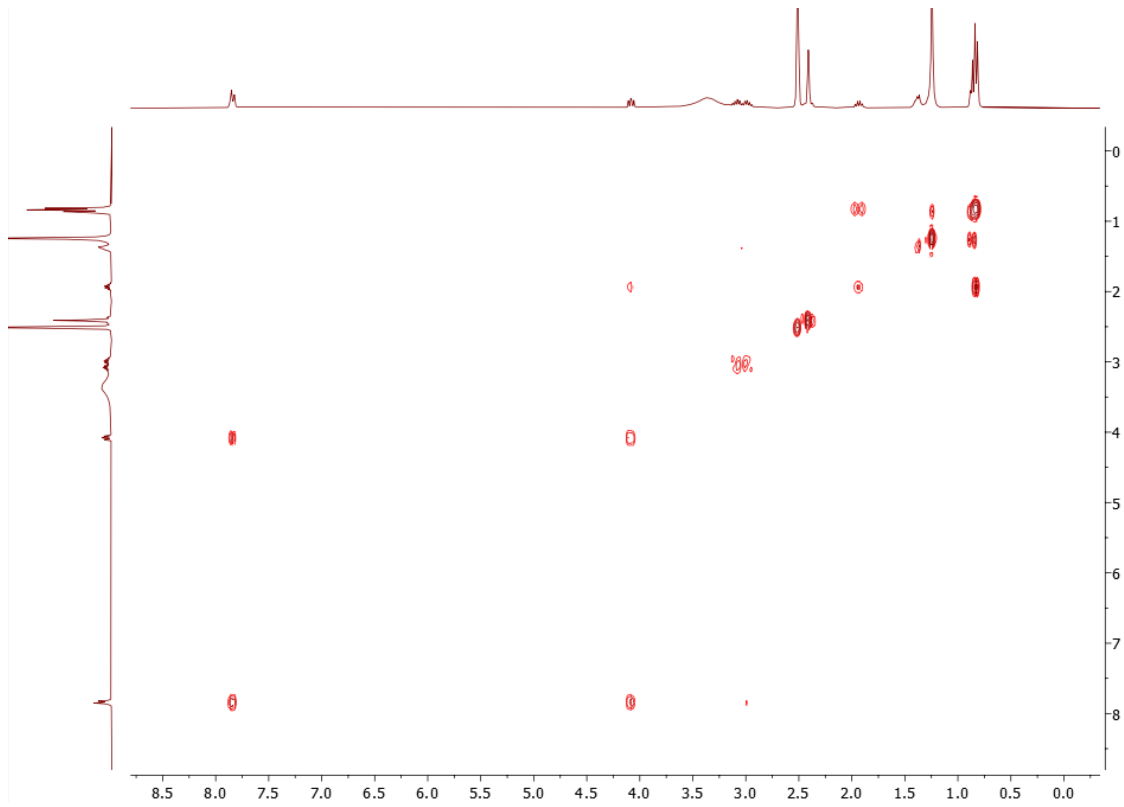


Figura A33 Espectro COSY de SucValC8.

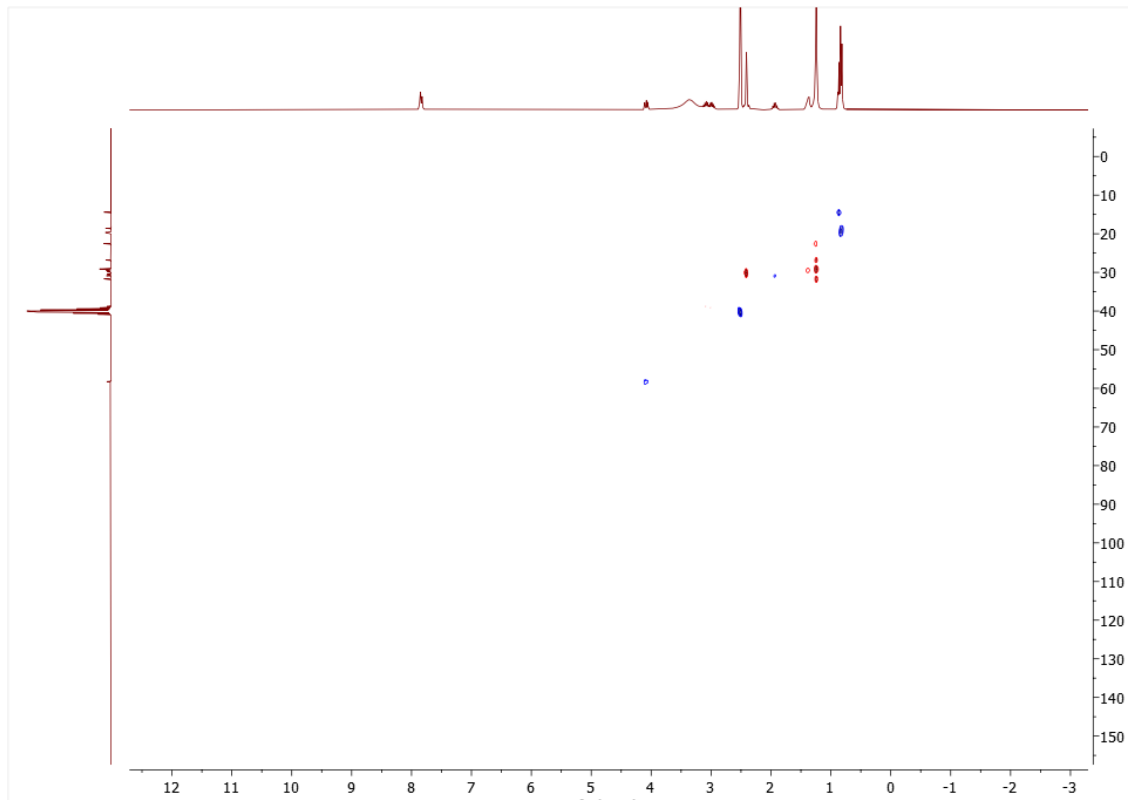
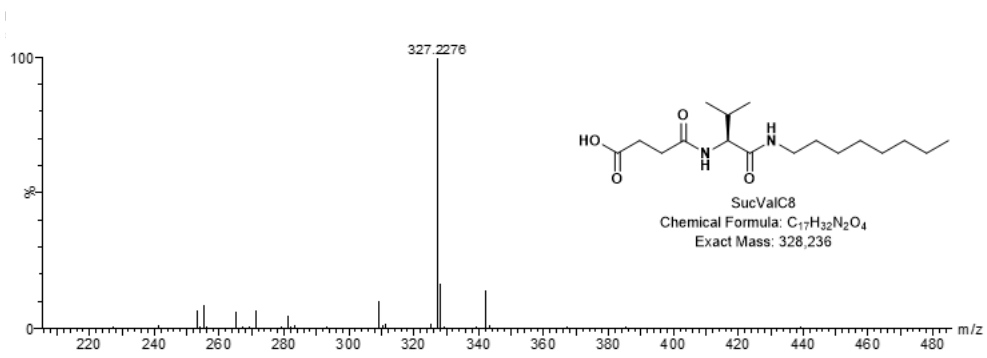


Figura A34 Espectro HSQC de SucValC8.



[M-H]⁻=327.2284
[M-H]⁻=327.2276 (2.4 ppm)

Figura A35 Espectro de masas de SucValC8.