



APROBADO POR:

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Giovanni Rojas Jiménez', is written over a horizontal line.

Giovanni Rojas Jiménez Ph. D
Director(a) del Proyecto.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Nora E. Valderruten Posso', is written over a horizontal line.

Nora Elena Valderruten Posso Ph. D
Evaluador (a)

Obtención de un surfactante derivado de L-arginina

Laura Marcela Rodríguez Murcia

Programa de Química Farmacéutica, Facultad de Ciencias Naturales
Universidad Icesi, Santiago de Cali, Valle del Cauca, Colombia

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Palabras claves:
surfactantes derivados
de aminoácidos, L-
arginina, compuestos N-
sustituidos, N, N'-
diciclohexilcarbodiimida
, Schotten-Baumann

RESUMEN

Debido a su gran versatilidad, los surfactantes son ampliamente utilizados en aplicaciones domésticas e industriales, sin embargo, tras su uso se descargan en los sistemas de alcantarillado o directamente en las aguas superficiales, afectando la biota marina. A partir de este panorama surge la necesidad de generar surfactantes cuya biodegradabilidad, biocompatibilidad y baja toxicidad sean características. Los surfactantes derivados de aminoácidos son una alternativa a esta problemática ya que son fáciles de sintetizar, tienen baja toxicidad y alta degradabilidad. Por ello el proyecto, busca proponer una metodología que permita la síntesis de un surfactante a partir de la reacción entre derivados de L-arginina, cloruro de palmitoílo y ácido palmítico, haciendo uso de condiciones Schotten-Baumann y de N, N'-diciclohexilcarbodiimida respectivamente. Primero se obtuvo el derivado esterificado de L-arginina con un rendimiento de 88 %, la identidad del compuesto fue confirmada por medio de espectroscopia infrarroja y espectrometría de masas. Posteriormente, con el intermediario obtenido se realizó la reacción de obtención del surfactante por las dos metodologías planteadas, sin embargo, ninguna resultó ser eficiente en la obtención del compuesto deseado ya que se obtuvieron subproductos indeseados, probablemente por problemas con la desactivación del cloruro de palmitoílo, el control estricto del pH en la reacción, la presencia de agua y las reacciones laterales existentes.

1. INTRODUCCIÓN

Un surfactante (una combinación del término en inglés **surface-active-agent**) es una sustancia que, en una baja concentración tiene la propiedad de adsorberse en las superficies o interfases de un sistema y disminuir la energía superficial o interfacial del mismo. Gracias a esta cualidad los surfactantes pueden emplearse como detergentes, agentes emulsificantes, dispersantes y espumantes.^{1,2}

Estas moléculas poseen características anfifílicas, al poseer una región con características apolares (normalmente un hidrocarburo que contiene entre 8 a 18 carbonos) y una región con características más polares (constituida, por ejemplo, por alcoholes o polímeros sintéticos de bajo peso molecular).¹ Esto permite que, por ejemplo, en sistemas constituidos por una fase oleosa y una acuosa, se reduzca la tensión interfacial causada por las fuerzas repulsivas de tipo hidrófobo que se generan entre las dos fases, dándole

así a las emulsiones, cosméticas o medicamentosas, una apariencia homogénea y una distribución adecuada del principio activo.

Debido a su gran versatilidad, los surfactantes son ampliamente utilizados en aplicaciones domésticas e industriales; más de 4,2 millones de toneladas de productos detergentes y 1,2 millones de toneladas de productos suavizantes se usaron anualmente en Europa occidental durante 10 años³ y para 2007 se produjo más de 3 millones de toneladas solo en esta región.

Después de su uso, los surfactantes residuales se descargan en los sistemas de alcantarillado o directamente en las aguas superficiales. Se sabe que, las concentraciones (en fracciones de masa) de uno de los surfactantes más comunes, el ácido alquilbenceno sulfónico lineal (LAS), alcanzaron hasta 1,1 mg/L en efluentes de aguas residuales. Estos niveles elevados de surfactantes pueden afectar en gran medida al

ecosistema (sobre todo el acuático) ya que su toxicidad para los organismos, es bien conocida.⁴ Los tensioactivos aniónicos pueden unirse a macromoléculas como péptidos, enzimas y ADN, lo que puede afectar el funcionamiento normal de estas moléculas y modificar las funciones biológicas celulares afectando así, a los organismos que entran en contacto con ellos. Igualmente, los surfactantes no iónicos también pueden interactuar con las proteínas y cambiar su integridad, generando un cambio en la permeabilidad de las membranas celulares y generando posibles pérdidas de material celular, con la consecuente pérdida de funcionalidad.⁴

A partir de este panorama surge la necesidad mundial de generar surfactantes cuya biodegradabilidad, biocompatibilidad y baja toxicidad sean características; los biosurfactantes, una clase de agentes tensioactivos que pueden ser obtenidos a partir de microorganismos, pretenden dar respuesta a este requerimiento. Los equivalentes sintéticos a los biosurfactantes pueden prepararse a partir de moléculas que imiten estructuras anfifílicas naturales, como los acilaminoácidos. Los surfactantes derivados de aminoácidos (ASS) han generado un gran interés científico a nivel mundial porque se pueden sintetizar a partir de fuentes renovables y su facilidad de degradación e inocuidad de sus subproductos hacen que sean más seguros para el medio ambiente.⁵

Los ASS pueden definirse como surfactantes compuestos por un grupo de aminoácidos ($\text{HO}_2\text{C}-\text{CHR}-\text{NH}_2$) o su residuo ($\text{HO}_2\text{C}-\text{CHR}-\text{NH}_2$). Como los aminoácidos son compuestos renovables, los surfactantes sintetizados a partir de ellos tienen un gran potencial como sustancias sostenibles y ecológicas.⁶ La estructura simple y natural, la baja toxicidad y la rápida biodegradación a menudo los hacen preferibles a sus contrapartes convencionales.

La primera investigación sobre la síntesis de AAS se reportó en 1909 por Bondi.⁷ En ese estudio, se introdujo la *N*-acilglicina y *N*-acilalanina como restos hidrófilos de surfactantes. Posteriormente, muchos investigadores han estudiado la síntesis y las

propiedades fisicoquímicas de los acilaminoácidos.^{8,9,10} Actualmente, se ha publicado un número significativo de investigaciones sobre la síntesis,^{10,11,12,13} propiedades físicas y químicas,^{14,15} aplicaciones industriales^{16,14} y biodegradabilidad de los AAS.^{17,18}

A pesar de las alternativas biosintéticas, la síntesis química de los AAS se ha encontrado más económicamente factible. Los aminoácidos pueden convertirse fácilmente en surfactantes de cadena simple con una molécula reactiva que lleva una cadena hidrófoba, como ácidos grasos, ésteres grasos, aminas y alcoholes grasos. La cadena hidrófoba se puede introducir en la estructura de aminoácidos a través de enlaces éster alquilo o amida.⁵

Desde un punto de vista económico y ambiental, los tensioactivos de cadena sencilla con un solo aminoácido en la cabeza polar son compuestos muy atractivos, ya que pueden prepararse fácilmente,⁵ son multifuncionales, tienen baja toxicidad, se preparan a partir de materias primas obtenidas de fuentes renovables y son biodegradables.¹⁹ Un ejemplo de este grupo, son los surfactantes de cadena sencilla preparados a partir de arginina. Debido a la presencia de un grupo guanidina, este aminoácido es una excelente materia prima para preparar surfactantes de forma relativamente simple. Se han sintetizado tensioactivos de *N*- α - acil arginina metil o etil éster de cadena larga mediante la condensación de un grupo hidrofóbico al grupo α -amino de arginina metil o etil éster. La cadena lateral de guanidina de la arginina es una base extremadamente fuerte, que en un estado no sustituido permanece protonada en condiciones normales para la acilación α .²⁰ Por lo tanto, es posible trabajar con una cadena lateral de arginina desprotegida controlando cuidadosamente el pH. Este método ha permitido el uso de condiciones experimentales muy suaves, evitando así la racemización y la formación de subproductos indeseables. Este tipo de surfactantes se han sintetizado normalmente con grupos hidrófobos provenientes de

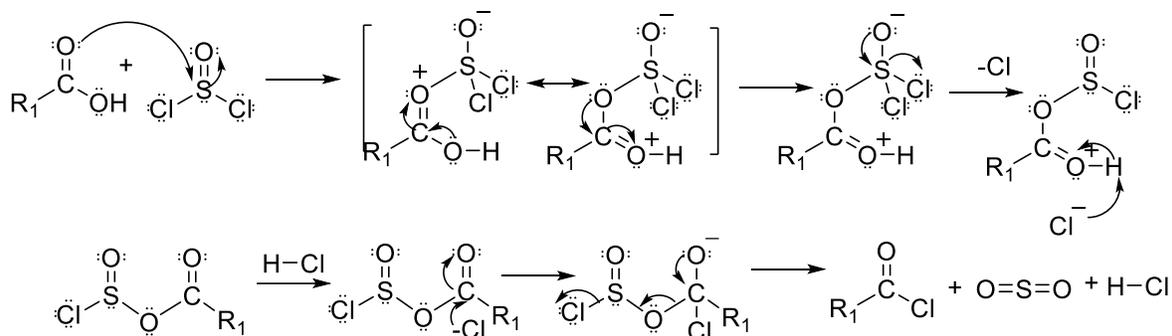


Imagen 1. Mecanismo de activación del grupo ácido carboxílico de L-arginina. R_1 : $C_5H_{13}N_4^+$

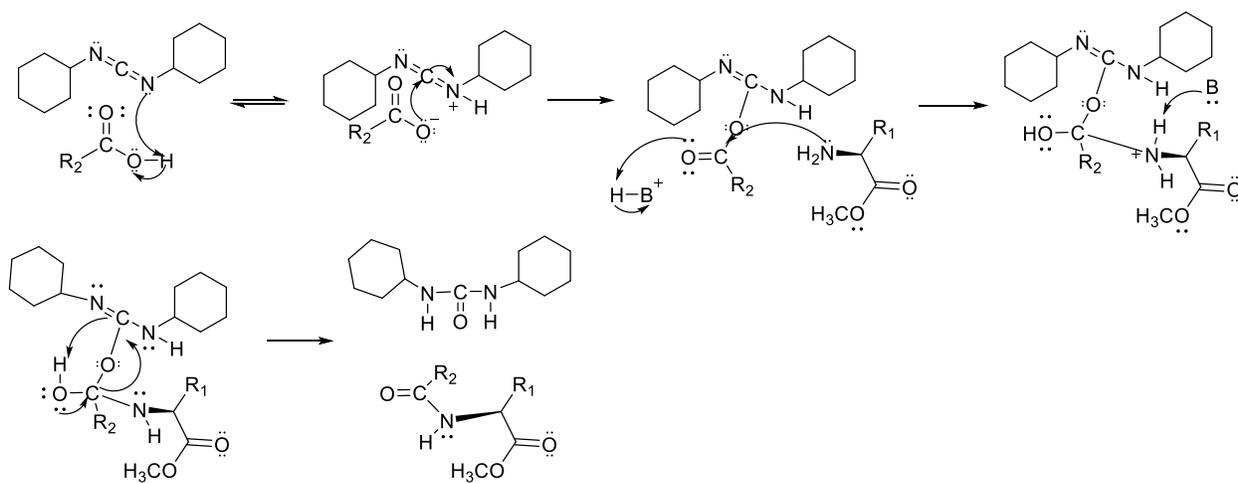


Imagen 2. Mecanismo de activación de ácido carboxílico por medio de dicitclohexilcarbodiimida y formación de amida correspondiente. R_2 : C15

ácidos grasos o sus derivados de hasta 14 carbonos.^{19,21} Para lograr la obtención de este tipo de moléculas, primero es conveniente obtener el derivado esterificado de L-arginina. La esterificación de Fischer no es un método del todo eficaz debido a la basicidad del grupo OH, por lo que la esterificación activando el ácido carboxílico de la molécula para transformarlo en un cloruro de acilo, es la opción más adecuada (Imagen 1).²²

Una vez obtenido el derivado esterificado del aminoácido, el surfactante deseado puede ser obtenido a través de una reacción entre este y el ácido graso deseado, en una reacción de formación de amidas en la

cual la *N, N'*-dicitclohexilcarbodiimida (DCC), actúa como agente acoplante al promover el aumento de la electrofilicidad del grupo carboxilo del ácido graso. Normalmente esta reacción se lleva a cabo en un solvente aprótico polar como *N,N'*-dimetilformamida (DMF) (Imagen 2).²³

Igualmente el método de acilación conocido como Schotten-Baumann, el cual es un método sencillo en el cual una amina y un cloruro de acilo derivado de ácido graso, en medio acuoso y con un base, se pueden convertir cuantitativamente en una amida,²⁴ también es una alternativa para obtener el surfactante buscado (Imagen 3).

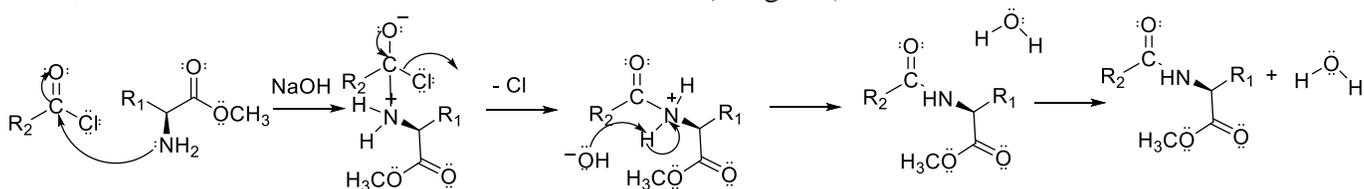


Imagen 3. Mecanismo de reacción de Schotten-Baumann.

Teniendo en cuenta todo lo anterior, el proyecto, busca proponer una metodología que permita la síntesis de un surfactante a partir de la reacción entre el derivado de L-arginina, cloruro de palmitoilo y ácido palmítico, aportando de este modo información y conocimiento que contribuya a la generación de metodologías de producción de surfactantes derivados de aminoácidos, capaces de suplir la demanda de este tipo de componentes pero que al mismo tiempo reduzcan el impacto ambiental negativo que los surfactantes sintéticos tradicionales generan.

2. METODOLOGÍA

Para lograr la síntesis surfactante se emplearon los reactivos L-arginina con una pureza mayor al 98%, *N, N'*-diciclohexilcarbodiimida con una pureza del 99%, ácido palmítico con una pureza mayor al 99%, metanol grado HPLC, cloruro de palmitoilo con una pureza de 98% y cloruro de tionilo con una pureza de 99%. Los primeros dos reactivos fueron adquiridos en la casa matriz Sigma-Aldrich, los demás, en conjunto, con solventes como éter etílico, dimetilformamida, bases y ácidos como ácido clorhídrico, trietilamina y carbonato de sodio fueron suministrados por el almacén de reactivos de la Universidad Icesi.

2.1. Esterificación de L-arginina

Para iniciar con la esterificación del aminoácido fue necesario secar metanol usando tamices moleculares, por un periodo de dos días. Tras este procedimiento, en un balón de tres bocas de 100 mL, previamente flameado, acoplado a condensador para reflujo y con una barra de agitación, se adiciono 13 mL de metanol bajo atmósfera inerte de nitrógeno.

El balón se encontraba en un baño frío, el cual alcanzó -10°C , gracias a la adición de sal. Una vez se logra esta temperatura, se adiciono con cánula y bajo campana 2,6 mL de cloruro de tionilo gota a gota, durante 10 minutos.

Posteriormente, se agregó 5 g de L-arginina y se dejó el sistema en agitación por 30 minutos a temperatura ambiente. Pasado este tiempo, el sistema, dentro de un baño de aceite, se llevó a una temperatura de 45°C por 30 minutos (Imagen 4).

Tras el calentamiento, la reacción se dejó en agitación por 16 horas a temperatura ambiente y posteriormente con ayuda de una bomba de vacío se retiró el exceso de SO_2 formado. El sólido formado fue filtrado y lavado dos veces con éter dietílico.

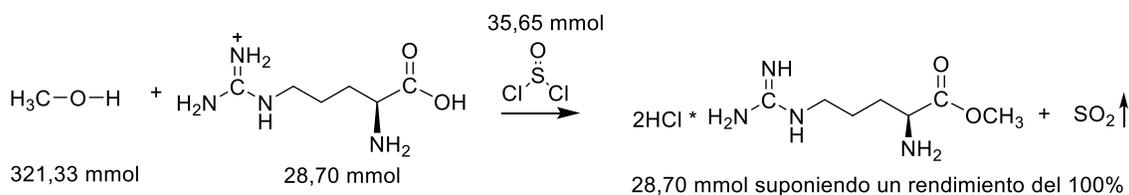


Imagen 4. Reacción de esterificación de L-arginina

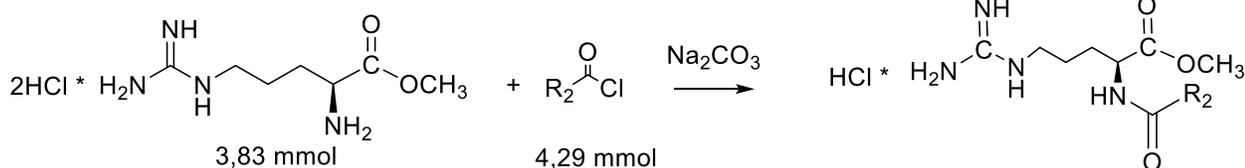
2.2. Caracterización de diclorhidrato del éster metílico de L-arginina.

Al producto obtenido en la etapa anterior, se le realizó prueba de punto de fusión, a través de fusiómetro, con el objetivo determinar pureza del compuesto y compararlo con datos ya reportados del producto. Igualmente se efectuó análisis de espectroscopía infrarroja IR-ATR con el fin de determinar cualitativamente, la presencia de algunos grupos

funcionales esenciales, como grupo éster y amina primaria. Adicionalmente se le realizó espectrometría de masas con infusión directa de la muestra en agua tipo I, para confirmar peso molecular esperado y fragmentaciones comunes del compuesto esperado.

2.3. Síntesis de monoclorhidrato de éster metílico de *N*- α -hexadecanoil-L-arginina en condiciones Schotten-Baumann

A un balón de fondo redondo de una boca y con agitador magnético, se adicionó 1,0005 g del producto obtenido en la reacción descrita en el ítem 2.1 y se diluyó en una mínima cantidad de agua fría. A continuación, se añadió gota a gota, Na₂CO₃ al 10% hasta alcanzar un pH entre 8 y 10 aproximadamente. Después se llevó el sistema a un baño de hielo con etilenglicol para alcanzar una temperatura de 10 °C,



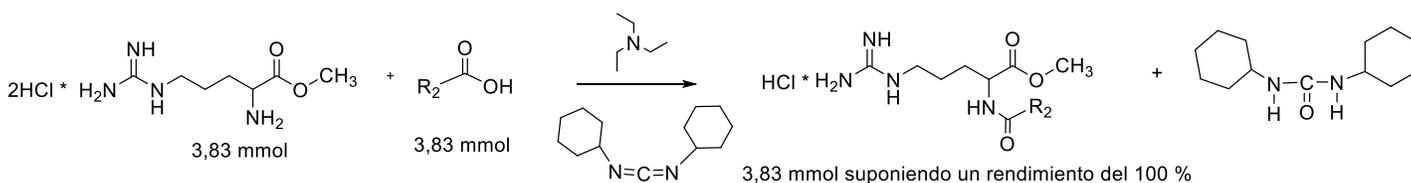
3,83 mmol suponiendo un rendimiento del 100%

Imagen 5. Reacción de obtención de éster metílico de *N*- α -hexadecanoil-L-arginina en condiciones Schotten-Baumann.

2.4. Síntesis de monohidrato de éster metílico de *N*- α -hexadecanoil-L-arginina con uso de *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida

Para iniciar la síntesis fue necesario primero secar con el uso de tamices moleculares DMF (el solvente aprótico polar) y la trietilamina (la base) por un periodo de 3 días. Posteriormente, en un balón de tres bocas de 100 mL, previamente flameado, con atmósfera inerte de nitrógeno y con barra de agitación magnética, se adiciono 8,3 mL de dimetilformamida, 0,26 mL de trietilamina y 1 g del intermediario obtenido en el ítem 2.1. Este sistema se dejó en agitación por 4 horas a

temperatura ambiente. Seguidamente, el cloruro de trietilamina formado se filtró bajo campana y al filtrado se le adiciono 0,98 g de ácido palmítico y 0,78 g de DCC. A continuación, la mezcla se dejó en agitación por 43 horas, periodo tras el cual el sistema se enfría hasta los 0 °C y se filtra el sólido formado (el subproducto) haciendo lavados con éter etílico. El filtrado fue secado con ayuda de nitrógeno gaseoso y una vez seco fue disuelto en una solución salina de NaCl y puesto en refrigeración para cristalizar un sólido (el surfactante deseado) que fue lavado con agua fría.



3,83 mmol suponiendo un rendimiento del 100 %

Imagen 6. Reacción de obtención de éster metílico de *N*- α -hexadecanoil-L-arginina con uso de DCC

2.5. Caracterización de monohidrato de éster metílico de *N*- α -hexadecanoil-L-arginina

Al producto final, se le realiza un análisis de espectroscopía infrarroja IR con disco de KBr, con el fin de comprobar la presencia de grupos característicos como el enlace amida.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Esterificación de L-arginina

Teniendo en cuenta las cantidades utilizadas para llevar a cabo la esterificación del aminoácido y la estequiometría de la reacción (imagen 4), se esperaba obtener 7,50 g del producto, sin embargo, el rendimiento experimental fue del 88 % obteniéndose un total de 6,5805 g de sólido blanco, que en principio

se presume que es diclorhidrato del éster metílico de L-arginina. Lo anterior evidenciaría el éxito en la obtención del intermediario, necesario para proceder con la síntesis del surfactante buscado. Esto, es debido probablemente, a la utilización del metanol seco que evitó la desactivación del cloruro de tionilo y al uso del sistema de reflujo que impide la evaporación de éste durante el periodo de calentamiento de la reacción.

En cuanto a la identidad y pureza del producto obtenido en esta sección, se pudo comprobar que el punto de fusión experimental del diclorhidrato de éster metílico de L-arginina fue de 189 a 191 °C. El punto de fusión reportado del compuesto es de 190-195 °C,²⁵ lo que indica una buena semejanza con el punto de fusión experimental hallado; sin embargo la diferencia existente entre ambos rangos de fusión puede deberse a desigualdades en los equipos usados para la medición de este parámetro o a las diferencias de pureza de los reactivos de partida usados en cada caso. Adicionalmente, la diferencia de 2 °C entre el inicio y el final de la fusión, permite inferir (no de forma definitiva) una pureza apropiada²⁶ del compuesto obtenido, lo que igualmente confirmaría un proceso de purificación exitoso. Sin embargo, el punto de fusión no es confirmatorio respecto a la identidad del compuesto por lo que fue necesario realizar un análisis IR-ATR y una espectrometría de masas al mismo.

En espectro IR de la molécula, se puede observar dos bandas correspondientes al estiramiento del enlace N-

H de las aminas primarias en 3316 y 3250 cm^{-1} , y una banda en 3399 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del mismo enlace, pero de las aminas secundarias presente en la estructura. Respecto a la flexión del enlace N-H se evidencia una banda en 1628 cm^{-1} característica de este tipo de enlace. Adicionalmente se evidencia una banda en 1662 cm^{-1} correspondiente al C=N de la imida del grupo guanidina presente en el aminoácido. También se evidencia una banda fuerte en 2850 cm^{-1} correspondiente al estiramiento simétrico C-H de la cadena carbonada presente en la estructura de la molécula.²⁷

Por otro lado, se observa la presencia de una banda en 1741 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del doble enlace C=O del éster, que al estar unido a un átomo de oxígeno desplaza la banda del carbonilo hacia frecuencias mayores.²² Igualmente se evidencia una banda en 1234 cm^{-1} correspondiente al estiramiento asimétricos del enlace C-O-C del éster.²⁷

Debido a que la molécula sintetizada cuenta ya con un espectro IR reportado²⁸, fue posible compararlo con el obtenido en este experimento, evidenciándose la similitud existente entre ambos y encontrándose bandas con frecuencias, intensidad (excepto para las bandas ubicadas entre 3000-2800 cm^{-1} debido a que el espectro de comparación fue realizado en nujol, el cual tiene absorción intensa en esta frecuencia²⁹) y formas similares (Imagen 7).

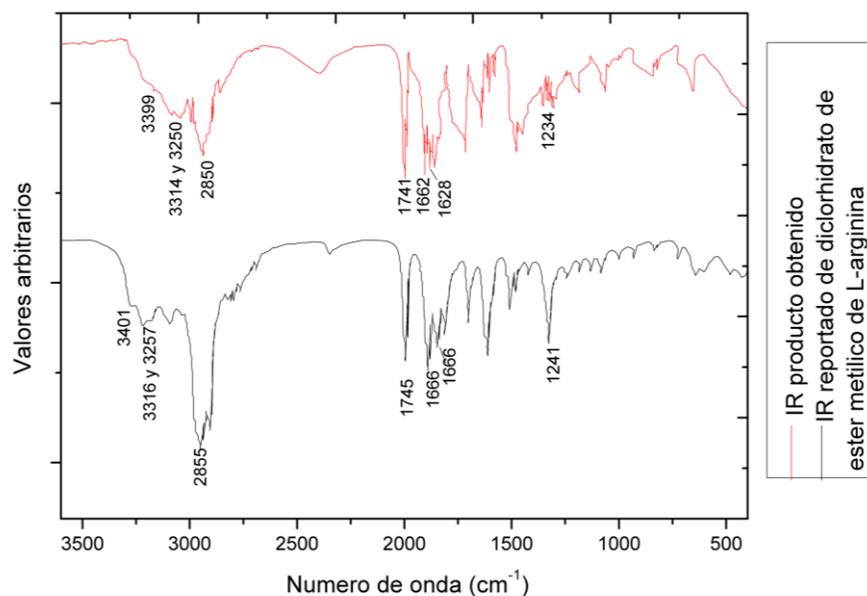


Imagen 1. Comparación espectro IR de diclorhidrato de éster metílico de L-arginina obtenido de la experimentación y el reportado.

En cuanto el espectro de masas (Imagen 9), se puede observar que el ion molecular es 189 m/z que corresponde al peso molecular del intermediario una vez es diluido en agua. El pico base por su parte es 70 m/z, al igual que en el espectro de masas ya reportado en la literatura³⁰, esta señal corresponde probablemente

a una fragmentación secundaria, que ocurre tras la fragmentación en el grupo guanidina y en el grupo éster del compuesto. En cuanto a las señales en 60 m/z y 130 m/z son producto, posiblemente, de la fragmentación de la molécula en el grupo guanidina en conjunto con la fragmentación en el grupo éster (Imagen 8).

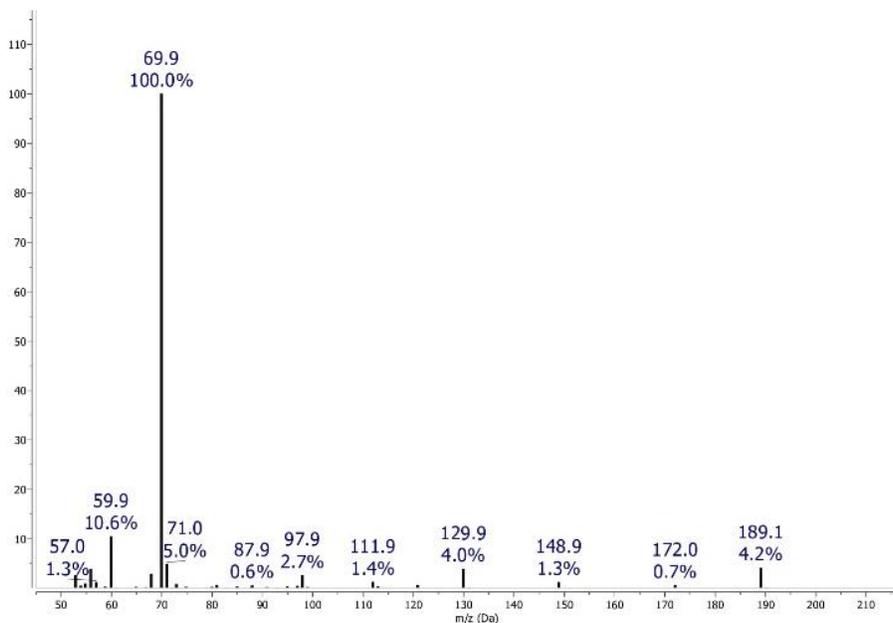


Imagen 9. Espectro de masas de diclorhidrato de éster metílico de L-arginina.

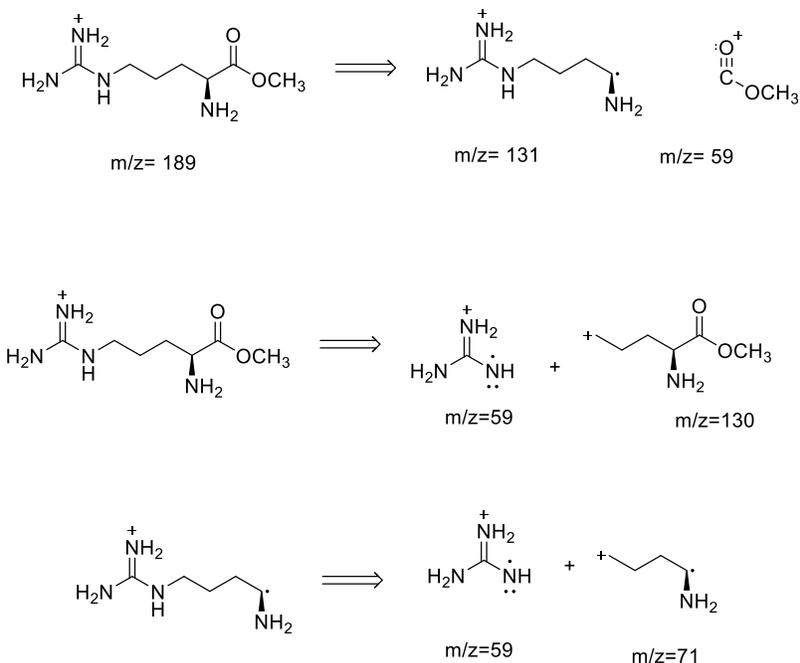


Imagen 10. Posibles fragmentaciones que sufre el diclorhidrato de éster metílico de L-arginina.

Lo anterior permite afirmar con una buena certeza que la metodología utilizada para la esterificación del aminoácido fue exitosa al igual su proceso de purificación.

3.2. Síntesis de monohidrato de éster metílico de *N*- α -hexadecanoil-L-arginina en condiciones Schotten-Baumann.

Considerando las cantidades de reactivos usados para llevar a cabo la síntesis del surfactante y según la estequiometría de la reacción (Imagen 5), se esperaba obtener 1,77 g de producto, sin embargo, al final se obtuvo un total de 1,4125 g de sólido blanco nacarado que en principio se espera que sea el surfactante buscado, lo cual significaría que con la metodología planteada fue posible obtener un rendimiento de 80 %. En cuanto a la identidad y pureza del sólido obtenido, se procedió a identificar el rango de fusión del compuesto, el cual se encuentra entre 58 y 59 °C, lo que refleja una pureza adecuada del mismo. Sin embargo, el punto de fusión del surfactante éster metílico de *N*- α -lauroil-L-arginina es de 70-72°C²⁵, por lo que se esperaría que el punto de fusión del surfactante buscado fuera mayor debido a que su cadena apolar posee cuatro carbonos más comparado

con el compuesto reportado.²² Debido a que el punto de fusión no es lo suficientemente determinante respecto a la identidad del compuesto, se procede a realizar un análisis IR-ATR.

Respecto al espectro IR obtenido se puede evidenciar ausencia de banda fuerte con deformación en tijera correspondientes a la flexión del enlace N-H entre 1640-1560 cm^{-1} en forma de tijera, tampoco hay presencia de la banda del estiramiento del mismo enlace que se ubica aproximadamente en 3500 y 3300, rango en el que podrían existir una o dos bandas, debido a la presencia tanto de aminas secundarias como primarias, además, no se observa una banda que evidencie el estiramiento del enlace C-N en 1250 a 1000 cm^{-1} .²⁷ Igualmente la banda fuerte en aproximadamente 1740 cm^{-1} correspondiente estiramiento del enlace carbonilo del éster no está presente, ni la banda en aproximadamente 1650 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace carbonilo de la amida,²² tampoco se evidencia un posible solapamiento de ambas bandas. Las bandas del estiramiento simétrico y asimétrico del enlace C-O-C entre 1275 y 1050 cm^{-1} tampoco se evidencian, ni una banda en aproximadamente 2000 cm^{-1} producto de la resonancia del enlace O=C-N de la amida presente en el compuesto esperado;²⁷ estas señales deberían estar presentes con una forma e intensidad similares a la

simulación lograda con Chem 3D del IR del surfactante (Imagen 11). Sin embargo, el espectro en cuestión muestra bandas que se ajustan mejor a una molécula como el ácido palmítico; presenta una banda en 1702 cm^{-1} , correspondiente al estiramiento del enlace C=O para ácido carboxílico, que normalmente para ácidos alifáticos saturados se ubica entre 1720-1707 cm^{-1} , una banda en 2923 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace C-H que se solapa con una banda ancha característica del estiramiento del enlace O-H como dímero o en enlace de hidrógeno con el solvente, una

banda ancha de la flexión fuera del plano de este último enlace en 940 cm^{-1} y, ³¹ una banda en 1316 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace C-O.²⁷ Lo anterior puede confirmarse al comparar el espectro IR reportado del ácido hexadecanoico, ³² en el que dichas bandas principales son muy similares a las encontradas en el IR de la molécula (Imagen 10). Además, el producto posee un rango de fusión experimental entre 58-59°C, el cual es más similar al rango de fusión experimental del palmítico que se encuentra entre 62-63°C.

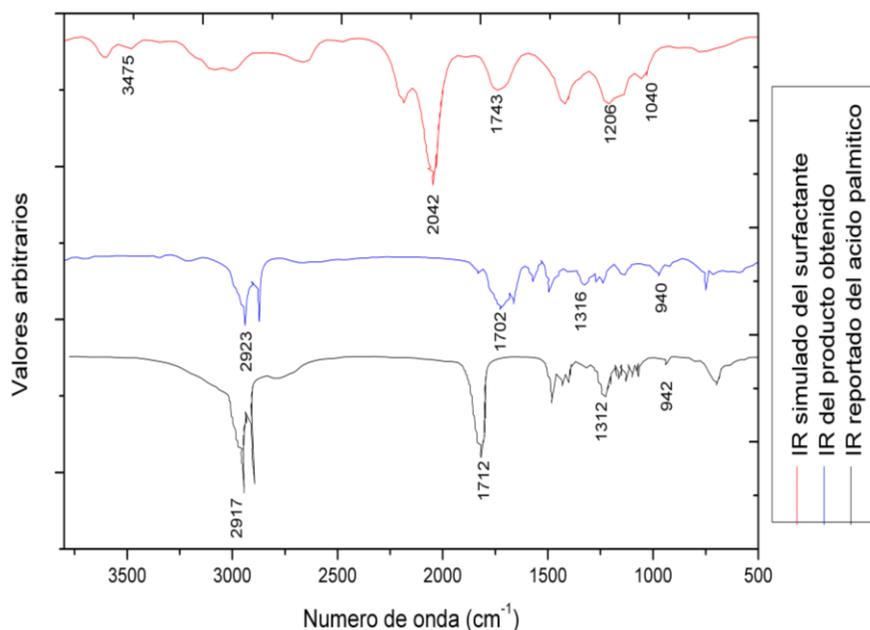


Imagen 11. Comparación espectros IR de la molécula obtenida tras la reacción, el simulado a través de Chem 3D de monoclóhidrato de éster metílico de N- α -hexadecanoil-L-arginina y el reportado del ácido palmítico.

De lo anterior se deduce que la metodología planteada no fue adecuada para obtener el surfactante deseado, lo que puede explicarse por varias razones. En las condiciones Schotten-Baumann, la nucleofilia de las aminas compite satisfactoriamente con el agua,²⁴ sin embargo, en las originalmente esta reacción, el intermediario es insoluble en agua por lo que la reacción es bifásica³³, lo cual en principio evitaría la descomposición del cloruro de acilo, sin embargo, el intermediario usado en este caso es soluble en agua y la reacción ya no es bifásica por lo que es muy probable que el cloruro de palmitoilo al ser altamente reactivo con el agua, se desactivará, formará su correspondiente ácido carboxílico y ya no participará en la reacción de condensación. Respecto al uso de agua como medio de

la reacción existen alternativas a esta metodología que sugieren que se use como solvente agua/acetona,³⁴ lo que permitiría reducir la disponibilidad del agua como nucleófilo, evitando así la desactivación del cloruro de acilo. Adicionalmente, el control del pH es esencial para que la reacción se lleve a cabo,²¹ de lo contrario la amina se protona (pKa : 9,1³⁵) y esto impediría que actuara como nucleófilo en la reacción por ello, otra posible razón por la que la metodología no fue adecuada puede estar relacionada con el pH de la reacción, el cual fue controlado de manera cualitativa a través de papel indicador, es decir, no se tuvo la posibilidad de vigilar de manera continua y cuantitativamente que el pH permaneciera en el rango adecuado; esto pudo entonces generar la inactivación

de la amina y la posterior reacción del cloruro de palmitoilo con el otro nucleófilo presente, es decir, el agua.

3.3. Síntesis de monoclóhidrato de éster metílico de *N*- α -hexadecanoil-*L*-arginina con uso de *N,N'*-díciclohexilcarbodiimida

Examinando las cantidades de reactivos usadas para llevar a cabo la síntesis del surfactante por esta metodología y teniendo en cuenta su estequiometría (Imagen 6), se esperaba obtener 1,77 g de producto, sin embargo, tras la purificación solo se logró obtener 0,5707 g de sólido blanco que se espera sea el surfactante buscado, lo cual representa solo un 32,2 % de rendimiento con el uso de esta metodología. El bajo rendimiento de la reacción comparada con abordada anteriormente es correspondiente con lo reportado en literatura^{25,21}.

Por otra parte, el producto obtenido tuvo un rango de fusión de 62-64 °C lo que da indicios de una pureza adecuada del sólido y por ende de una purificación exitosa. Respecto a la identidad, como ya se explicó en el ítem 3.2. el rango de fusión encontrado no corresponde con lo que se esperaría del surfactante y se asemeja nuevamente al rango de fusión del ácido palmítico. Para tener más información acerca de la

identidad del compuesto obtenido, se procede a realizar un IR del producto, en el cual se evidencia ausencia de bandas fuertes en 1740 cm^{-1} y en 1650 cm^{-1} aproximadamente,²² que corresponden al estiramiento del enlace C=O para el grupo éster y amida respectivamente, los cuales deberían estar presentes en la molécula. Adicionalmente hay ausencia de las dos bandas medias entre 3300-3500 cm^{-1} , que hacen parte de las aminas primaria del grupo guanidina o una banda que puede estar solapada con las anteriores que represente las aminas secundarias presentes en la molécula. También existe ausencia de bandas adicionales características del compuesto que se describieron en el apartado 3.2.

El espectro por el contrario, muestra bandas, que corresponden mejor con el ácido palmítico, ya que posee una banda en 1701 cm^{-1} , correspondiente al estiramiento del enlace C=O en los ácidos carboxílicos, una banda en 2919 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace C-H solapado con una banda ancha del estiramiento del enlace O-H como dímero o en enlace de hidrógeno con el solvente, una banda ancha característica de la flexión fuera del plano de este último enlace en 944 cm^{-1} y, una banda en 1312 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace C-O (Imagen 12).²⁷

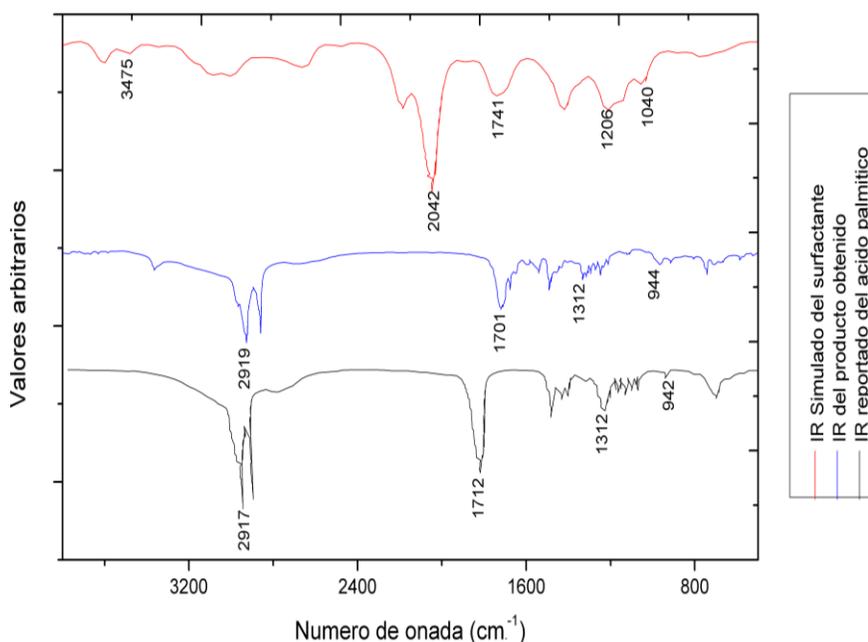


Imagen 12. Comparación espectros IR de la molécula obtenida tras la reacción usando DCC, el simulado a través de Chem 3D de monoclóhidrato de éster metílico de *N*- α -hexadecanoil-*L*-arginina y el reportado del ácido palmítico.

Por todo lo anterior, se puede concluir que la metodología en cuestión no fue satisfactoria para la síntesis del surfactante buscado debido, probablemente, a razones como: tanto la trietilamina como el DMF, debían estar libres de agua, sin embargo, este último es un solvente bastante higroscópico³⁶ por lo que no necesariamente tras el tratamiento con tamices moleculares haya quedado adecuadamente seco. La presencia de agua en la reacción dificulta la solubilidad de la *N,N'*-diclohexilcarbodiimida ya que esta es insoluble en dicho solvente³⁷; lo anterior, podría generar una falta de disponibilidad del reactivo, debido a que el solvente de la reacción, DMF, puede interactuar eficientemente con el agua, disminuyendo de este modo las posibles interacciones que se pueden generar entre la dimetilformamida y la DCC, esto provocaría puede provocar una disminución de la solubilidad de esta última y la imposibilidad consecuente de llevar a cabo su función dentro de la reacción, la cual es actuar como activador del ácido graso, al mejorar la electrofilia del grupo carboxilo del mismo, que es necesaria para facilitar la formación del enlace amida y con ello la formación del surfactante, esto sumado al hecho de que el ácido palmítico es miscible en éter etílico³⁸ explicaría porque el producto final tras la purificación, tiene características similares a este compuesto. Adicionalmente, la presencia de agua en el sistema puede generar una competencia con la nucleofílica de la amina, lo que dificultaría que la reacción se llevará a cabo.

Por otro lado, el pH también juega un papel importante en la reacción, es por ello que primero se procede a usar trietilamina con el intermediario para lograr un pH que evite que la amina se protona y pierda su capacidad de actuar como nucleófilo, sin embargo, durante el desarrollo de la metodología no se verificó que el pH logrado en este paso fuera lo suficientemente alto para evitar este fenómeno, por lo que es factible que el pH no fuera el adecuado, provocando que la amina del intermediario fuera protonada y la reacción de no procediera. Adicionalmente, la reacción de formación de amidas usando *N,N'*-diclohexilcarbodiimida, a pesar de ser directa tiene reacciones laterales que complican la obtención del producto deseado³⁹ (Imagen 13) lo que posiblemente explicaría entonces la

poca eficiencia que tuvo la metodología para la obtención del surfactante buscado.

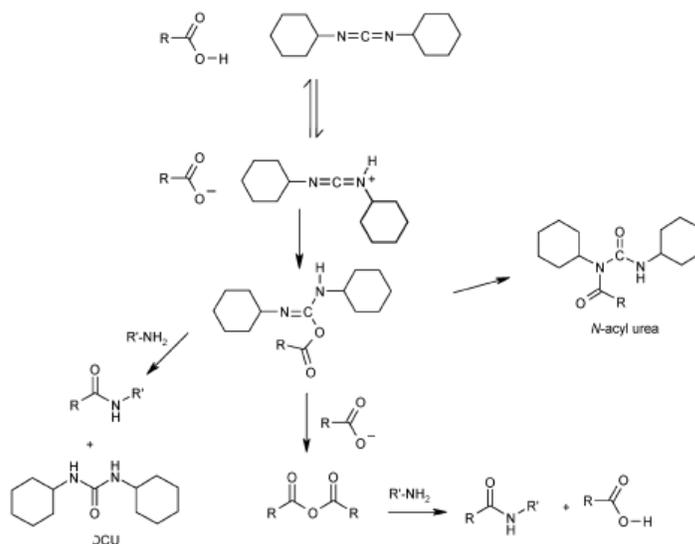


Imagen 13. Reacciones laterales de la formación de amidas usando DCC. Tomado de Valeur, E. & Bradley, M. Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagents

4. CONCLUSIONES

Fue posible obtener el intermediario diclorhidrato de éster metílico de L-arginina con la metodología planteada, con un muy buen rendimiento. Este compuesto se caracterizó a través de IR-ATR y espectrometría de masas, análisis que permitieron confirmar la identidad de la molécula, al mostrar señales características de la molécula y al ser comparados con los espectros ya existentes en la literatura.

La metodología de síntesis del surfactante bajo condiciones Schotten-Baumann no fue exitosa, debido a que no fue posible obtener el producto planteado. Con el IR del sólido obtenido tras la reacción y las señales características que este presenta, se puede afirmar que la metodología no fue exitosa posiblemente por la desactivación del cloruro de palmitoilo con la consecuente formación de ácido palmítico.

Por otro lado, la segunda metodología en la que se usó DCC como acoplador en la reacción de formación de amidas que utiliza el ácido palmítico y no su derivado clorado para obtener el surfactante, tampoco resultó exitosa ya que el espectro IR no muestra las señales características de la molécula. Lo anterior pudo deberse

a factores como presencia de agua en los solventes usados, un pH inadecuado o el hecho de que la reacción genere varios subproductos indeseados.

5. RECOMENDACIONES

A partir del trabajo realizado y de los resultados obtenidos, se recomienda revisar y modificar la metodología de síntesis del surfactante como tal, dado que la generación del intermediario de esta reacción, es decir, la esterificación del aminoácido resulto exitosa. Para los futuros trabajos, en los que se usen condiciones Schotten-Baumann, es indispensable que se evite la desactivación del cloruro de palmitoílo, al evitar que en el medio de reacción se incluya agua o usando una mezcla de solventes como agua/acetona. En cuanto a la metodología en el que se emplea DCC, es importante asegurar que el solvente y la base usada, estén lo suficientemente secos antes de iniciar la síntesis del surfactante. Igualmente también se pueden usar metodologías en las que se sintetizen este tipo de surfactantes usando DCC pero en emulsiones W/O concentradas⁴⁰.

Por otra parte, es indispensable que independientemente de que metodología se emplee, el control del pH sea estricto, continuo y que se empleen herramientas cuantitativas para hacer seguimiento de este parámetro durante el desarrollo de la reacción, ya que afecta de forma directa el éxito de las reacciones empleadas en las metodologías exploradas.

6. AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, deseo agradecer a mis padres por su apoyo incondicional, especialmente a mi madre, quien siempre me ha inspirado e impulsado a cumplir mis metas. Igualmente, agradezco al Dr. Giovanni Rojas, tutor de este proyecto, por escuchar mis ideas, por la dedicación y el apoyo para hacerlas realidad, por la confianza ofrecida y por su excelente dirección.

Asimismo, quiero expresar mi gratitud a todos los profesores que a lo largo de la carrera compartieron sus conocimientos conmigo, sobre todo a Ferley Orozco, quien siempre estuvo dispuesto a aclarar mis dudas, a darme sugerencias y a brindarme colaboración para la consecución de este proyecto.

7. REFERENCIAS

1. Rosen, M. J. & Kunjappu, J. T. Surfactants and interfacial

- phenomena. in (ed. 4) 1–4 (Wiley, 2012).
2. Jean-Louis, S. SURFACTANTS Types and Uses. *UNIVERSIDAD DE LOS ANDES FACULTAD DE INGENIERIA ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA* (2002).
3. Pettersson, A., Adamsson, M. & Dave, G. Toxicity and detoxification of Swedish detergents and softener products. *Chemosphere* **41**, 1611–1620 (2000).
4. Ivanković, T. & Hrenović, J. Surfactants in the Environment. *Arch. Ind. Hyg. Toxicol.* **61**, (2010).
5. Tripathy, D. B., Mishra, A., Clark, J. & Farmer, T. Synthesis, chemistry, physicochemical properties and industrial applications of amino acid surfactants: A review. *Comptes Rendus Chim.* **21**, 112–130 (2018).
6. Infante, M., Pinazo, A. & Seguer, J. Non-conventional surfactants from amino acids and glycolipids: Structure, preparation and properties. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **123–124**, 49–70 (1997).
7. Bondi, S. Lipoprotein and the analysis of degenerative adiposis lipopeptides, their meaning, synthesis and characteristics (laurylglycin and laurylalanin). *Z. Biochem. Volumen* **17**, 543 (1909).
8. Heitmann, P. Reactivity of Sulfhydryl Groups in Micelles. A Model for Protein. *Eur. J. Biochem.* **5**, 305–315 (1968).
9. Heitmann, P. A Model for Sulfhydryl Groups in Proteins. Hydrophobic Interactions of the Cysteine Side Chain in Micelles. *Eur. J. Biochem.* **3**, 346–350 (1968).
10. Presenz, P. *Lipoamino acids and lipopeptides as amphiphilic compounds. Pharmazie* **51**, (1996).
11. Pérez, L. *et al.* Cationic surfactants from lysine: Synthesis, micellization and biological evaluation. *Eur. J. Med. Chem.* **44**, 1884–1892 (2009).
12. Lundberg, D. *et al.* Inclusion of a single-tail amino acid-based amphiphile in a lipoplex formulation: Effects on transfection efficiency and physicochemical properties. *Mol. Membr. Biol.* **28**, 42–53 (2011).
13. Clapés, P. & Rosa Infante, M. Amino Acid-based Surfactants: Enzymatic Synthesis, Properties and Potential Applications. *Biocatal. Biotransformation* **20**, 215–233 (2002).
14. Fördedal, H., Sjöblom, J. & Infante, R. Lipoamino acid association in the system $N\alpha$ -lauroyl-L-arginine methyl ester—1-pentanol—water as studied by dielectric spectroscopy. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **79**, 81–88 (1993).
15. Wang, S.-F., Furuno, T. & Cheng, Z. Synthesis of new amino acid-type amphoteric surfactants from tall oil fatty acid. *J. Wood Sci.* **47**, 470–475 (2001).
16. Infante, M. R., Mollnero, J. & Erra, P. Lipopeptidic surfactants. II. Acidic and basic $N\alpha$ -lauroyl-L-arginine dipeptides from pure amino acids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **69**, 647–652 (1992).
17. Piera, E., Comelles, F., Erra, P. & Infante, M. R. New alkyl amide type cationic surfactants from arginine. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 335–342 (1998). doi:10.1039/a705565j
18. Trivedi, T. J. *et al.* Task-Specific, Biodegradable Amino

- Acid Ionic Liquid Surfactants. *ChemSusChem* **4**, 604–608 (2011).
19. Pinazo, A. *et al.* Amino acid-based surfactants: New antimicrobial agents. *Adv. Colloid Interface Sci.* **228**, 17–39 (2016).
 20. R. Geiger & Köning, W. Amine protection groups. in *The Peptides* (eds. Gross, E. & Meienhofer, J.) (1981).
 21. U. Singare, P. & D. Mhatre, J. Cationic Surfactants from Arginine: Synthesis and Physicochemical Properties. *Am. J. Chem.* **2**, 186–190 (2012).
 22. Yurkanis Bruice, P. *Química Orgánica*. (PEARSON EDUCACIÓN, 2008). doi:10.1017/CBO9781107415324.004
 23. Holmberg, K. Natural surfactants. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **6**, 148–159 (2001).
 24. Primo, E. Química orgánica básica y aplicada. *Editor. Reverté* 915–920 (2007).
 25. Garcia Domínguez, J. J., Infante, M. R., Erra, P. & Julia, M. R. Nuevo procedimiento para la preparacion de acidos N α -acil-L-alquilaminoguanidínicos y cualquiera de sus sales, como agentes tensioactivos de acción microbiana. **9** (1982).
 26. Durst, H. D. & Gokel, G. W. *Química orgánica experimental*. (Reverté, 1985).
 27. Obando, F., Braulio, I. & Yates, B. Aplicación de la espectroscopia de infrarrojo al análisis orgánico cualitativo. in *Análisis organico clasico y espectral* 94–147 (1999).
 28. National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST). L-arginine methyl ester dihydrochloride. (2008). Available at: <https://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/landingpage?sdbno=52108>. (Accessed: 20th April 2019)
 29. Pavia, D. L. *Introduction to organic laboratory techniques: a small scale approach*. (Thomson Brooks/Cole, 2005).
 30. National Institute of Advanced Industrial Science and Technology. MS spectrum of L-arginine methyl ester dihydrochloride. (2008). Available at: <https://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/landingpage?spcode=MS2008-03707CW>. (Accessed: 16th May 2019)
 31. Sheppard, D. H. y N. Las bandas de absorción de infrarrojos asociadas con los grupos COOH y COOD en ácidos carboxílicos diméricos. I. La Región de 1500 a 500 cm⁻¹. *Actas de la Royal Society de Londres. Serie A, Ciencias Matemáticas y Físicas* **216**, 247–266
 32. National Institute of Advanced Industrial Science and Technology. hexadecanoic acid. (1999). Available at: <https://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/landingpage?sdbno=908>. (Accessed: 29th April 2019)
 33. ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY. Schotten-Baumann reaction. Available at: <https://www.rsc.org/publishing/journals/prospect/ontology.asp?id=RXNO:0000165>. (Accessed: 28th April 2019)
 34. Atwood, D. A. *Sustainable inorganic chemistry*. (2016).
 35. Fitch, C. A., Platzer, G., Okon, M., Garcia-Moreno, B. E. & McIntosh, L. P. Arginine: Its pKa value revisited. *Protein Sci.* **24**, 752–61 (2015).
 36. Bainova, A., United Nations Environment Programme., International Labour Organisation., World Health Organization. & International Program on Chemical Safety. *Dimethylformamide*. (World Health Organization, 1991).
 37. Hermanson, G. T. & Hermanson, G. T. Zero-Length Crosslinkers. *Bioconjugate Tech.* 259–273 (2013). doi:10.1016/B978-0-12-382239-0.00004-2
 38. Haynes, W. M. Palmitic acid. in *CRC Handbook of Chemistry and Physics* (ed. Taylor & Francis) 3–294 (CRC Press LLC, 2014).
 39. Valeur, E. & Bradley, M. Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagents. doi:10.1039/b701677h
 40. Pinazo, A., Infante, M. R., Izquierdo, P. & Solans, C. Synthesis of arginine-based surfactants in highly concentrated water-in-oil emulsions. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 1535–1539 (2000). doi:10.1039/b000975j