

ASPECTOS GENERALES RELACIONADOS CON LA SÍNTESIS DEL N,N,N-CLORURO DE TRIMETILQUITOSANO

Jorge Enrique Rodríguez-Chanfrau^{1*}, Zalu Rodríguez-Riera²

¹ Departamento de Química Orgánica. Facultad de Química. Universidad de la Habana. La Habana. Cuba. Correo electrónico: jerodriguez354@gmail.com; jerodriguez@fq.uh.cu

² Departamento de Radioquímica. Instituto Superior de Tecnologías y Ciencias Aplicadas (INSTEC). La Habana. Cuba. Correo electrónico: zalu@instec.cu

Recibido: Marzo 2016; Aceptado: Diciembre 2016

RESUMEN

Quitina y quitosano son biopolímeros naturales presentes en el exoesqueleto de crustáceos. Los mismos poseen amplio uso en la industria farmacéutica, alimentaria, biotecnológica y cosmética, existiendo un gran número de investigaciones reportadas en la literatura. Sin embargo, estos dos polímeros, a pH mayores que 6, son insolubles, limitando su uso.

Diversas alternativas han sido estudiadas para incrementar la solubilidad, entre ellas, la síntesis del N,N,N cloruro de trimetilquitosano mediante la metilación de los grupos aminos presentes en el quitosano. Una revisión de los reportados en la literatura muestra que han sido establecidas diferentes metodologías sintéticas, siendo la más efectiva la síntesis que usa el sulfato de dimetilo como agente metilante. El sulfato de dimetilo no solo es más eficiente, sino que es menos costoso y menos tóxico que los otros agentes comúnmente empleados. Un alto grado de sustitución es obtenido después de 6 horas de reacción a temperatura ambiente, obteniéndose un compuesto soluble en agua independientemente del pH del medio. Este procedimiento tiene además la ventaja de ser amigable con el medio ambiente.

Palabras claves. Quitosano, N,N,N cloruro de trimetilquitosano, sulfato de dimetilo, biopolímeros naturales

ABSTRACT

Chitin and chitosan are natural biopolymer present in the exoskeletons of crustaceans. They are used in pharmaceutical, food, biotechnological and cosmetic industries; a great number of investigations have been reported in the literature. However, these two polymers bigger than pH 6 are insoluble, limiting their use.

Diverse alternatives have been studied to increase the solubility, for instance, the synthesis of the N,N,N-trimethylchitosan hydrochloride by methylation of amino groups present in the chitosan. A revision of the literature shows that it has been established different synthetic methodologies, being the most effective the synthesis in which the dimethyl sulfate is used as the methylating agent. Dimethyl sulfate is not only more efficient but is less expensive and less toxic than other commonly agents used. The highest degree of substitution was obtained after 6 hours long-term reaction at room temperature, being obtained a water soluble compound independently of the pH. This procedure also has the advantage of being friendly with the environment.

Keyword. Chitosan, N,N,N-trimethyl chitosan hydrochloride, Dimethyl sulfate, Natural biopolymer

INTRODUCCIÓN

La quitina y su derivado funcional el quitosano, son polisacáridos naturales, presentes en el exoesqueleto de crustáceos tales como los calamares, cangrejos y langostas que poseen amplias aplicaciones en las industrias farmacéuticas, alimentarias, biotecnológicas y en la fabricación de cosméticos [1–4]. Estos exoesqueletos constituyen un residuo sólido de la industria pesquera a nivel

internacional, por lo que la utilización de estos desechos como fuente de materia prima además de resolver problemas económicos, soluciona una problemática medioambiental.

Cuba ha obtenido a nivel industrial quitina a partir del carapacho de la langosta (*Panulirusargus*) y en los últimos años ha desarrollado un procesamiento tecnológico para la obtención de quitosano a partir de esta quitina para su uso en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria [5, 6]. Sin embargo, a pesar de las bondades que presentan estos dos biopolímeros, sus aplicaciones se ven limitadas por la insolubilidad que presentan ambos componentes a pH mayores que 6, lo que impide en muchos casos un uso más eficaz de los mismos

Para solucionar esta dificultad, se han estudiado diversas alternativas para incrementar la solubilidad del quitosano a nivel internacional, dentro de ella la alquilación de los grupos aminos de su estructura con formación de N,N,N-trimetilquitosano. El objetivo de este trabajo consistió en evaluar el estado del arte de este proceso y las perspectivas de investigación en este campo.

DESARROLLO

Aspectos generales sobre la modificación del quitosano. Dada la posibilidad estructural que presenta el quitosano para ser modificado, diversas investigaciones han estado encaminadas a la derivatización de este componente con el objetivo de obtener una molécula más compatible con el ambiente fisiológico del organismo y a su vez igual o más efectivo que el precursor [7–10].

En un principio, las modificaciones químicas del quitosano tenían como único objetivo aumentar la solubilidad acuosa del mismo [8]. Pero, paralelamente se fue observando que la inclusión de ciertos grupos funcionales mejoraba además la compatibilidad del polímero con diversos ingredientes farmacéuticos activos, potenciándose el carácter mucoadhesivo y aumentando el tiempo de residencia en la zona de absorción [11].

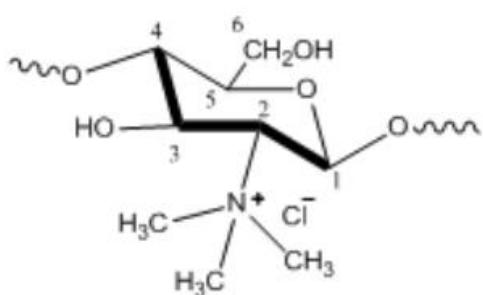


Figura 1. Estructura química del cloruro de N,N,N-trimetilquitosano.

Los sitios reactivos del quitosano son los grupos amino y los grupos hidroxilo presentes en la molécula. De ahí que todas las investigaciones han estado enfocadas a modificar el quitosano mediante reacciones que formen derivados por cualquiera de estos sitios reactivos de la molécula, fundamentalmente en los últimos años se ha trabajado en la modificación mediante un proceso de cuaternización del grupo amino con grupos metilos, siendo uno de los caminos que mejores resultados ha mostrado hasta el momento [7].

Síntesis del cloruro de N,N,N-trimetilquitosano. El cloruro de N,N,N-trimetilquitosano es el compuesto que más se ha investigado en cuanto a sus propiedades químico-físicas, métodos de obtención y efecto biológico [7, 12]. La Figura 1 muestra la estructura química de este compuesto.

La primera evidencia que afirma la posibilidad de metilar el grupo amino de quitosano la presenta *Mazzarelli y colaboradores* en 1985, mediante una reacción con yodometano, formaldehido y borohidruro de sodio. Mediante este proceso se logró la trimetilación del 60% de los grupos amino en la molécula de quitosano, evitando la escisión de las cadenas. Este proceso de metilación resultó efectivo al no producirse la reacción con los grupos hidroxilo de la estructura, obteniendo un derivado de amonio cuaternario soluble en agua [7, 8, 12].

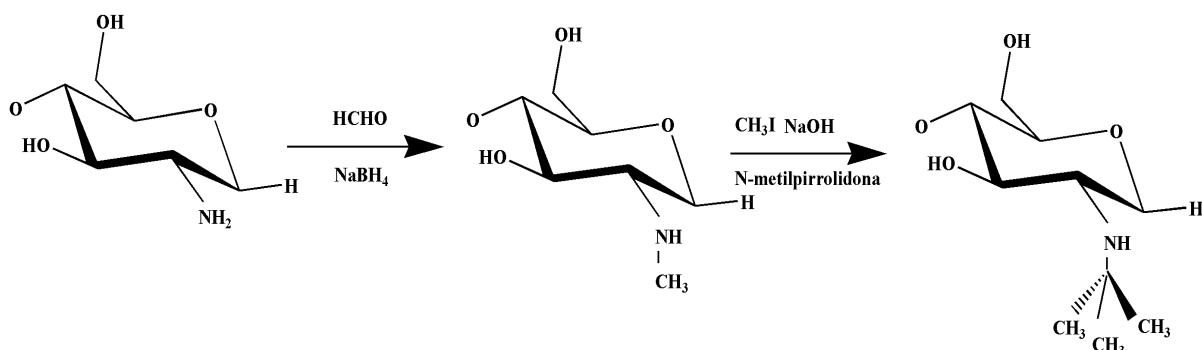


Figura 2: Esquema de síntesis del cloruro de N,N,N-trimetilquitosano propuesto por Mazzarelli y col. [8]

El grado de cuaternización (DQ) puede ser alterado mediante el incremento del número de etapas de la reacción o mediante el uso de quitosano con diferentes grados de desacetilación. De cualquier modo, a mayores grados de cuaternización se evidencia una O-metilación en los grupos hidroxídos 3 y 6 del quitosano. En general, la O-metilación lleva a productos menos solubles y hasta el momento no hay síntesis capaces de metoxilar de forma controlada el polímero. Por tanto es deseable para preparar polímeros de trimetilquitosano un alto DQ con un bajo grado de O-metilación, aunque este último aspecto deberá ser estudiado con mayor profundidad debido a que no siempre será un fenómeno indeseado [7, 8].

Teniendo esto como premisa, en la literatura aparecen reportados diferentes variantes de síntesis en las cuales se emplea el yoduro de metilo como agente alquilante e hidróxido de sodio como base fuerte. Así *Domard y colaboradores* [7, 13] dispersan el quitosano en N-metil-2-pirrolidinona (NMP) reaccionando con yoduro de metilo en medio fuertemente básico (quitosano – CH_3I – NaOH en razón molar 1:15:2) durante 3 horas, a 36°C, provocando una despolimerización excesiva del quitosano. Para eliminar esta dificultad y controlar los diferentes parámetros que afectan la cuaternización, *Le Dung* [14] introduce modificaciones este proceso variando la relación entre los reactivos de la síntesis (quitosano: CH_3I – NaOH en razón molar 1:15:3,45). No obstante a estos cambios, la evaluación mediante Resonancia Magnética Nuclear (RMN- ^1H) de muestra que en ambas síntesis ocurría fundamentalmente un proceso de dimetilación del polímero, lográndose solamente entre un 10–15% de cuaternización de la molécula.

Sieval y colaboradores modifican el proceso con respecto a la secuencia de adición disolvente/reactivo y reportan procedimientos de síntesis de uno o dos pasos en dependencia del orden de adición de los reactivos. En la síntesis de un solo paso el quitosano se dispersa en N-metil-2-pirrolidinona con yoduro de metilo, yoduro de sodio y añadiendo conjuntamente disolución acuosa de hidróxido de sodio para garantizar el medio básico. En la síntesis de dos etapas, inicialmente el quitosano se dispersa en disolución de hidróxido de sodio con yoduro de sodio y posteriormente se añade el yoduro de metilo mezclado con N-metil-2-pirrolidinona. Los productos resultantes de ambos procesos fueron lavados con etanol y éter, y sometido nuevamente a la metilación pero con menor cantidad yoduro de metilo. Los resultados muestran que la dimetilación decreció significativamente [13].

Snnyman y colaboradores realizan la reacción de forma repetitiva cuatro veces con el objetivo de alcanzar un mayor grado de sustitución, utilizando la misma cantidad de agente metilante y realizando el lavado del polímero inicial con etanol antes de comenzar cada fase de repetición [15].

Otras modificaciones fueron hechas por *Hamman y Kotzé* y posteriormente empleadas por *Polnok y colaboradores* para variar el número de etapas de la reacción y el tipo de base. Las bases usadas fueron hidróxido de sodio y dimetilaminopiridina junto con N-metil-2-pirrolidinona. El grado de cuaternización de los polímeros obtenidos por el proceso usando la dimetilaminopiridina como base fue menor que al emplear el hidróxido de sodio. La degradación polimérica también fue baja. Esto puede explicarse debido a las débiles propiedades alcalinas de la dimetilaminopiridina en comparación con el hidróxido de sodio. Una combinación de ambas bases no reduce la degradación del polímero, mientras que el grado de cuaternización está limitado a valores relativamente bajos (entre 12,5 y 34,4%). Los intentos de aumentar el grado de cuaternización aumentando el número

de etapas están acompañados de una disminución de la dimetilación y un incremento de la O-metilación [7].

Runarsson y colaboradores modifican el sistema de disolvente utilizando una mezcla dimetilformamida/agua (50:50) y realizan la reacción sin la ayuda del catalizador yoduro de sodio. Se obtiene una significativa reducción de la O-metilación debido a que la combinación de disolventes que se utiliza disminuye la reactividad del grupo hidróxido lo suficiente como para mantener baja la O-metilación. El grado de cuaternización resulta bajo en los materiales obtenidos, variando entre 0 y 74% en dependencia de las condiciones de reacción, estando acompañadas de monometilación, dimetilación y O-metilación (quitosano:CH₃I:NaOH en razones molares de 1:6, 12:1, 5:9, tiempo 0,5 a 48 horas y temperaturas de 21, 50, 75°C) [16, 17].

Basándose en estos resultados se ha sugerido la posibilidad de alcanzar altos grados de sustitución (entre 81 y 88%) mediante el procedimiento selectivo de síntesis, empleando la relación quitosano – CH₃I – NaOH en razón molar 1:6:3, tiempo 48 horas y temperatura ambiente [17].

Otras estrategias de síntesis no han sido ampliamente usadas, como es el caso de la reacción de *Domard* donde se forma y se reduce posteriormente la base de *Schiff*, alcanzándose la trimetilación de más del 60% de los grupos aminos. En este caso se forma la base de *Schiff* con formaldehido, seguido de la reducción con borohidruro de sodio y la cuaternización en medio fuertemente alcalino con yoduro de metilo. Este método en 2 etapas probablemente previene la escisión de la cadena y la desacetilación de los grupos N-acetil remanentes, pudiendo obtenerse el trimetilquitosano con bajos niveles de O-metilación [7].

En un intento por sintetizar trimetilquitosano libre de O-metilación, *Verheul y colaboradores* sintetizaron primeramente quitosano dimetilado y en un segundo paso el quitosano trimetilado. Este procedimiento se basa en el método propuesto por *Muzzarelli y Tanfani*, con la modificación en los disolventes y los agentes reductores del sistema empleado [7, 18].

Todos los métodos descritos utilizan el yoduro de metilo para realizar la metilación del quitosano, que aunque es un agente metilante eficiente, es un reactivo altamente volátil, carcinogénico y caro.

Síntesis del cloruro de N,N,N-trimetilquitosano empleando sulfato de dimetilo como agente alquilante. Con el fin de eliminar las desventajas que representa el empleo de yoduro de metilo como agente alquilante, *Britto y colaboradores* proponen una secuencia alternativa basada en la utilización de sulfato de dimetilo para la síntesis de derivados cuaternizados del quitosano [9]. La Figura 3 muestra el esquema de síntesis del procedimiento propuesto por este autor para la obtención del cloruro de N,N,N-trimetilquitosano.

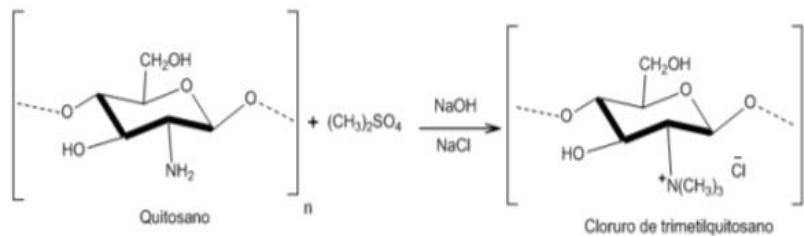


Figura 3: Esquema de síntesis del cloruro de N,N,N-trimetilquitosano empleando sulfato de dimetilo como agente alquilante propuesto por Britto y col. [9]

La secuencia básica de esta reacción consiste en suspender el quitosano en sulfato de dimetilo y agua desionizada en un medio fuertemente básico por la adición de hidróxido de sodio y cloruro de sodio, agitando a temperatura ambiente durante 6 horas. Después de filtrar, el producto final se obtiene por precipitación con acetona. La aplicación de esta metodología permite a los autores obtener cloruro de N,N,N-trimetilquitosano con grados de cuaternización mayores al 50% [9].

El mecanismo de esta reacción se basa en una sustitución nucleofílica bimolecular (SN₂) donde la amina actúa como nucleófilo (*base de Lewis*) dado que el par electrónico sin compartir (no enlazante) del nitrógeno pueden formar un enlace con un electrófilo como el sulfato de dimetilo según el esquema que se muestra en la Figura 4 [19].

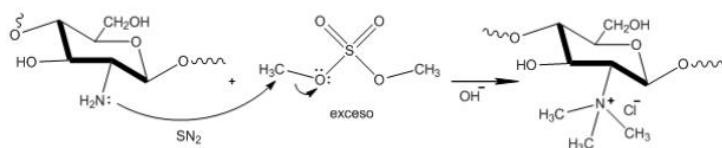


Figura 4. Mecanismo de la reacción de alquilación del quitosano [19].

El sulfato de dimetilo se añade en exceso, en una cantidad suficiente para alquilar la amina el máximo número de veces, evitando la formación de mezclas de diferentes productos alquilados proceso que se conoce como alquilación exhaustiva con formación de la sal de tetraalquilamonio. En este proceso es necesario añadir una base no muy fuerte (hidróxido de sodio diluido) para evitar la protonación de las aminas alquiladas intermedias que puedan formarse y neutralizar la gran cantidad de ácido sulfúrico que se forma [19].

De forma paralela, *Britto y colaboradores* estudian la influencia de la temperatura sobre el proceso de cuaternización, comprobando que la misma provoca la degradación térmica, con una reducción significativa de los rendimientos en el proceso y del grado de cuaternización. Por otro lado, observan que en el proceso realizado a temperatura ambiente, como en los realizados a diferentes temperaturas, la metilación en posición orto compite a lo largo del proceso. Esta propuesta tiene la particularidad de realizarse en solo una etapa, a temperatura ambiente y sin el uso de reactivos costosos. Sin embargo, al igual que muchas de las síntesis presentadas, el grado de metoxilación es evidente y difícil de controlar [8, 9].

El método reportado por estos autores se toma como referencia no solo por las ventajas del agente alquilante que utiliza, sino porque alcanza la modificación del polisacárido en un solo paso de síntesis, sin la utilización de disolventes y en un tiempo de 6 horas a temperatura ambiente, lo que hace que la metodología sea más amigable con el medio ambiente.

Existen un grupo de factores que influyen en la reacción de alquilación de un polímero. Entre ellos se encuentran el pH del medio, el grado de cristalinidad del polímero y la facilidad de penetración del agente alquilante con el disolvente dentro de la masa del polímero. Este último factor esta precedido por un proceso de hinchamiento del polímero que permite la penetración del disolvente y agiliza la reacción del agente alquilante con los grupos funcionales presentes en el mismo [20, 21].

Teniendo en cuenta estos factores, recientemente *Padrón* [19] evaluó la posible influencia de la velocidad de agitación y el tiempo de reacción en el rendimiento de la reacción. Como resultados este autor confirmó que el parámetro que más influye sobre el rendimiento de la reacción fue la velocidad de agitación, obteniéndose rendimientos superiores a los reportados por *Britto y colaboradores* [9] en un menor tiempo de reacción.

En la literatura que plantea que la velocidad que se aplique en el proceso de agitación favorece el proceso de síntesis, influyendo significativamente en la calidad y el rendimiento del producto final. Así, un incremento de la velocidad de agitación, disminuye el efecto de transferencia de masa y a la vez favorece el proceso de humectación e hinchamiento, facilitando la dispersión del polímero en el medio y por ende la reacción [20].

En las condiciones de síntesis propuestas por este autor se logra alcanzar un producto que mejora su solubilidad y viscosidad respecto al producto de partida, con bajos contenido de ortometilación y valores de cuaternización y dimetilación similares a los reportados por otros autores [8, 9]. Es de destacar que el quitosano empleado por este autor proviene de quitina obtenida a partir de carapacho de langosta cubana según procedimiento establecido por *de la Paz* y

colaboradores [6].

CONCLUSIONES

La síntesis del cloruro de N,N,N-trimetilquitosano resulta de interés para el desarrollo de nuevos productos con vistas a lograr derivados de quitosanos solubles. Los métodos de alquilación utilizan ioduro de metilo, sulfato de dimetilo o una secuencia de alquilación reductiva mediante la formación de una base de *Schiff*. Como resultado se obtiene un compuesto con una carga positiva permanente que puede comportarse como un polielectrólito y que resulta soluble en agua independientemente del pH del medio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Escobar Sierra DM, Ossa Orozco CP, Quintana MA, Ospina WA. *Scientia et Technica.*, **18(1)**, 260 (2013)
2. Fernández M, Heinämäki J, Räsänen M, Maunu S, Karjalainen M, Nieto O, Iraizoz A, Yliruusi J. *Carbohydrate Polymers.*, **58**, 401 (2004)
3. Paulino A, Simionato J, García J, Nozaki J. *Carbohydrate Polymers.*, **64**, 98 (2006)
4. Yamaguchi I, Itoh S, Suzuki M, Sakane M, Osaka A. *Biomaterials.*, **24**, 2031 (2003)
5. Henrques R, Nieto O "Método para la obtención de quitina suficientemente pura". Cuba patent 20.760, 1980
6. de la Paz N, Fernández M, López O D, Nogueira A, García C, Pérez D, Tobella J L, Montes de Oca Y, Díaz D, *Rev Iberoam Polim.*, **13(3)**, 103 (2012)
7. Mourya V K, Inamdar N N, *J. Mater Sci., Mater. Med.*, **20**, 1057 (2009)
8. Torres-Vergara P "Evaluación de la influencia de derivados de quitosano sobre la permeabilidad intestinal de capreomicina sulfato en modelos "in vivo" e "in vitro". Tesis Doctoral. Concepción. Chile. Universidad de Concepción, 2009
9. Britto D, Assis O. *Carbohydrate Polymers*, **69**, 305 (2007)
10. Mourya V, Inamdar N. *Reactive & Functional Polymers*, **68**, 1013 (2008)
11. Thanou M, Nihot MT, Jansen M, Verhoef JC, Junginger HE, *J. Pharm Sci.*, **90(1)**, 38 (2001)
12. Belalia R, Grelier S, Benaissa M, Coma V. *J Agric Food Chem.*, **56(5)**, 1582 (2008)
13. Sieval A B, Thanou M, Kotze A F, Verhoef J C, Brusse J, Junginger H E. *Carbohydrate Polymers*, **36**, 157 (1998)
14. Dung P, Milas M, Rinaudo M, Desbrieres J. *Carbohydrate Polymers*, **24**, 209 (1994)
15. Snyman D, Hamman J, Kotze J, Rollings J, Kotze A. *Carbohydrate Polymers*, **50**, 145 (2002)
16. Runarsson O, Holappa J, Nevalainen T, Hjalmarsdottir M, Jarvinen T, Loftsson T, Einarsson J, Jonsdottir S, Valdimarsdottir M, Masson M, *Carbohydrate Polymers*, **43**, 2660 (2007)
17. Runarsson O, Holappa J, Jonsdottir S, Steinsson H, Masson M. *Carbohydrate Polymers*, **74**, 740 (2008)
18. Verheul R, Amidi M, Van der Wal S, Van Riet E, Jiskoot W, Hennink W, *Biomaterials*, **29(27)**, 3642 (2008)
19. Padrón Y "Obtención de cloruro de N,N,N-trimetilquitosano a partir de quitosano derivado de quitina proveniente del carapacho de langosta". Tesis para optar por el título de Licenciado en Radioquímica. La Habana, Cuba, Instituto Superior de Tecnologías y Ciencias Aplicadas, 2014
20. Mujlionov I, Averbuj A, Kuznetsov D, Amelin A, Tumarkina E, Furmer I "Tecnología Química General", Moscú, Editorial MIR, 1979
21. Crini G, Badot P, *Prog Polym Sci.*, **33**, 399 (2008)