

# Síntesis de un copolímero de poli(etilenglicol) y poli( $\beta$ -bencil-L-aspartato) para su aplicación en el encapsulamiento de medicamentos hidrofóbicos

R. Hernández Sierra<sup>a,\*</sup>, B.J. Micheli<sup>a</sup>, L.A. García Cerda<sup>b</sup>, J. Romero García<sup>b</sup>, O.S. Rodríguez Fernández<sup>b</sup>.

<sup>a</sup>Departamento de Química, ITESM Campus Monterrey, Eugenio Garza Sada 2501. Monterrey, N.L

<sup>b</sup>Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA). Blvd. Enrique Reyna Hermosillo 140. Saltillo, Coah.

\*E-mail: [rocio@itesm.mx](mailto:rocio@itesm.mx)

## Introducción

En los últimos años ha existido un creciente interés en el desarrollo de portadores coloidales de medicamentos, es decir, suficientemente pequeños para su administración intravenosa, sin la posibilidad de generación de problemas tromboticos. El objetivo de estos es asegurar la liberación de un medicamento de manera continua y controlada manteniendo una dosis eficiente del mismo, sin acercarse a la dosis tóxica. Se ha demostrado que las partículas de material polimérico biodegradable y biocompatible, de tamaño nanométrico ( $10^{-9}$  m), son excelentes portadoras de medicamentos y pueden ser utilizadas de forma segura.<sup>[1]</sup>

Con el fin de aumentar la persistencia en el sistema circulatorio, una de las mejores opciones es cubrir el medicamento con un polímero que no pueda ser reconocido por el sistema inmunológico y que además sea hidrofílico para asegurar su compatibilidad con la sangre. Entre los polímeros hidrofílicos, el Poli(etilenglicol) (PEG) es considerado no tóxico y ha sido aprobado por la FDA para su uso interno en humanos<sup>[2]</sup>. Además de su carácter hidrofílico, otra característica importante es la flexibilidad de la cadena. La estructura flexible y rápidamente cambiante del PEG hace que el sistema inmunológico tenga dificultades para modelar un anticuerpo alrededor de él y por lo tanto, formará una capa protectora que evitará dicha interacción.

El presente trabajo está enfocado al transporte de medicamentos insolubles en agua, por lo tanto, es necesario contar con una parte hidrofóbica capaz de disolver, atrapar o enlazar al medicamento. Se desea además utilizar un polímero que pueda ser degradado por los procesos normales del organismo. Esto lleva a considerar la utilización de un péptido, con el fin de evitar la formación de cualquier metabolito de alta toxicidad. El polímero elegido es el Poli( $\beta$ -bencil-L-aspartato) (PBLA). Este polímero es capaz de solubilizar medicamentos hidrofóbicos, tiene la facilidad de unirse químicamente al PEG y es fácilmente degradado en el organismo. El polímero estará formado por un bloque de péptido, el cual constituirá el centro de la nanopartícula y un bloque de PEG que formará la capa flexible, compatible con el agua. En este caso es necesario bloquear un grupo terminal del PEG bajo la forma de un éter metílico y activar el otro extremo como grupo amino. Este grupo iniciará la polimerización del N-Carboxianhídrido (NCA). Para este fin se utilizará  $\alpha$ -metoxi- $\omega$ -amino-PEG.

En el presente trabajo se describe la polimerización del PBLA sobre una cadena de PEG funcionalizada utilizando  $\beta$ -bencil-L-aspartato-N-carboxianhídrido (BCA-NCA) como monómero y la síntesis del BCA-NCA mediante la carboxilación del  $\beta$ -bencil-L-aspartato (BCA), así como la caracterización de los productos mencionados

## Parte experimental

### *Síntesis del $\beta$ -Bencil-L-Aspartato-N-Carboxianhídrido (BCA-NCA)*

El BCA-NCA fue sintetizado tal como se describe en la literatura<sup>[3]</sup>. Se disolvió el BCA (Sigma) en THF seco y destilado. Se calentó el sistema a 50 °C en atmósfera de nitrógeno. Se

añadió el trifosgeno (Fluka) hasta obtener una solución incolora. Después de 3 horas se agregó hexano a la solución hasta observar la formación de cristales. Esta solución se congeló a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. Pasado este tiempo se recrystalizó el NCA con THF/hexano hasta punto de fusión constante. Finalmente se secó al vacío. La caracterización de este producto se llevó a cabo mediante espectroscopía IR y RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ .

#### *Síntesis del Poli( $\beta$ -Bencil-L-Aspartato) sobre Poli(etilen-glicol) (PEG-PBLA)*

Se añadió DMF (Aldrich) doblemente destilado al BCA-NCA. Posteriormente, se añadió cloroformo (Aldrich) destilado hasta la disolución completa del BCA-NCA. Se agitó a  $35^{\circ}\text{C}$  en una atmósfera de nitrógeno. Por otra parte, se disolvió el mPEG-NH<sub>2</sub> (M=5000, 114 unidades, Shearwater) en cloroformo destilado. La razón molar de PEG/BCA-NCA fue de 1:19 con el objetivo de obtener 19 unidades de PBLA. Se dejó reaccionar durante 21.5 h con agitación. Para la remoción del PEG residual se disolvió el PEG-PBLA en cloroformo y se puso en baño maría a  $40^{\circ}\text{C}$ . Se añadió metanol (Aldrich) hasta la formación de un precipitado blanco. Se centrifugó y se secó al vacío. Nuevamente se disolvió en cloroformo y se añadió éter etílico en exceso. Se centrifugó y se secó al vacío. La caracterización del PEG-PBLA se llevó a cabo medio de RMN de  $^1\text{H}$ .

## Resultados

#### *Síntesis del $\beta$ -Bencil-L-Aspartato-N-Carboxiahnídrido (BCA-NCA)*

El producto obtenido fue un polvo blanco. El rendimiento fue del 81% obtenido tomando como base el peso inicial de  $\beta$ -bencil-L-aspartato.

Fue posible comprobar que la reacción se efectuó analizando el producto por espectroscopía de Infrarojo (IR); la aparición de dos bandas, separadas por  $60\text{ cm}^{-1}$ , pertenecientes al grupo carboxílico de un anillo pentagonal saturado, entre  $1850\text{ cm}^{-1}$  aproximadamente, es diagnóstico de la formación del producto esperado<sup>[4]</sup>. Mediante un análisis IR se obtuvieron dos picos a  $1861.37$  y  $1801\text{ cm}^{-1}$ , lo cual es una evidencia clara de la existencia de BCA-NCA como producto. (Figura 1).

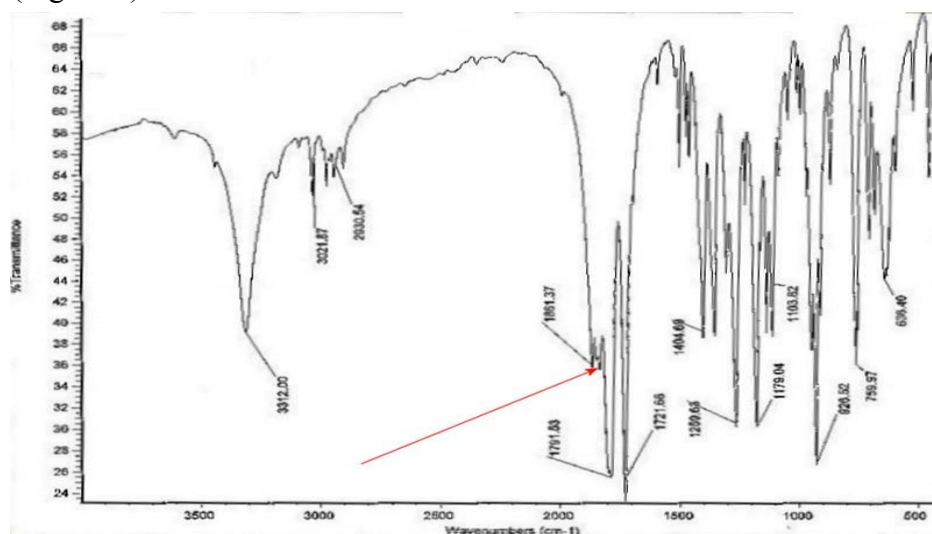


Figura 1. Espectro IR del BCA-NCA

Para la comprobación de la pureza del producto se utilizó el análisis de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ . En un inicio se simularon los dos espectros utilizando el programa ACD Labs 5.0 HNMR Viewer y CNMR Viewer respectivamente. Posteriormente se comparó el desplazamiento de los picos obtenidos experimentalmente con los teóricos. La Tabla 1 muestra comparación de los desplazamientos químicos, la cual hace evidente que el producto obtenido corresponde al BCA-NCA esperado (los protones y carbonos a los cuales corresponden los desplazamientos se encuentran señalados por negritas).

Grupo Funcional	Protón		Carbón	
	Desplazamiento Teórico (ppm)	Desplazamiento Experimental (ppm)	Desplazamiento Teórico (ppm)	Desplazamiento Experimental (ppm)
R- <b>CH<sub>2</sub></b> -CO-O-	3.05, 3.10, 3.20	2.85-3.15	36.26	35
-NH- <b>CH</b> -CO-	4.81	4.7	53.19	54
-CO- <b>CH<sub>2</sub></b> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	5.16	5.15	66.1	66.5
- <b>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub></b>	7.27-7.37	7.4	128.50 - 136.81	128.5 - 136
-NH-CO-O-CO-	9.17	9.05	153.71	152.5
- <b>CH</b> -CO-O-			169.39	169.5
- <b>CH<sub>2</sub></b> -CO-O-			170.51	171
THF	1.84 y 3.73	1.75 y 3.6		

Tabla 1. Desplazamientos teóricos y experimentales para la molécula de BCA-NCA.

#### *Síntesis del Poli( $\beta$ -Bencil-L-Aspartato) sobre Poli(etilen-glicol) (PEG-PBLA)*

La metodología para sintetizar esta estructura resultó ser acertada obteniéndose el PEG-PBLA en forma de polvo blanco. El rendimiento fue del 86.7%, calculado mediante la ecuación (1).

$$100\% \text{ de Rendimiento} = \text{Peso del PEG} + \text{Peso del BCA-NCA} * 0.823 \quad \text{Ecuación (1)}$$

Para verificar la composición del producto se utilizó un análisis de RMN. Específicamente, el análisis de RMN de protón permite comparar el área de los picos correspondientes a los protones metilénicos del PEG ( $-\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ,  $\delta = 3.6$ ) y los protones bencílicos del PBLA ( $\text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $\delta = 5.0$ ; PBLA) <sup>[5]</sup>. Mediante esta comparación es posible conocer el número de unidades de PBLA, dado un número determinado de unidades de PEG.

En el espectro experimental (Figura 2) el pico a 3.574 ppm corresponde a los 4 protones metilénicos del PEG; el pico a 4.965 ppm corresponde a los 2 protones bencílicos de PBLA. Tomando en cuenta que el espectro muestra una unidad de integración de PBLA por cada 12.161 unidades de integración de PEG, se tiene la relación  $\text{PBLA/PEG} = 0.1645$ . Considerando que el PEG utilizado ( $M_w = 5000$ ) contiene 114 unidades, se obtiene que, bajo las condiciones de reacción indicadas anteriormente, se lograron añadir 18.75 unidades de PBLA, en promedio. Esto da una aproximación del 98.7% con respecto a las 19 unidades planeadas.

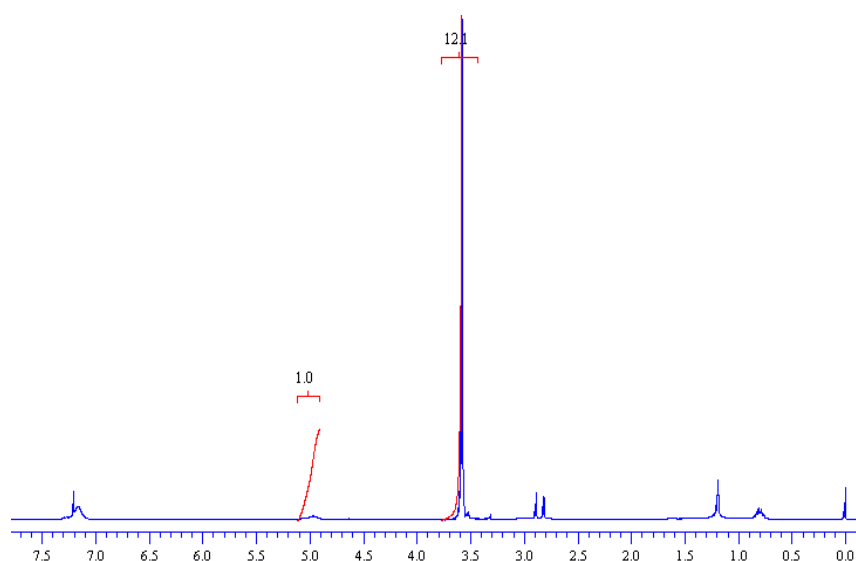


Figura 2. Espectro  $^1\text{H}$ -RMN del PEG-PBLA

## Conclusiones

Se obtuvo BCA-NCA a partir de la carboxilación del BCA, mediante el método tradicional, utilizando trifosgeno. Mediante los análisis IR y RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se obtuvo evidencia clara de la existencia de este producto. El rendimiento fue del 81%. También se obtuvo PEG-PBLA polimerizando el BCA-NCA sobre una cadena de mPEG-NH<sub>2</sub>. El rendimiento obtenido fue del 86.7%. Las evidencias experimentales presentadas en este trabajo sugieren que la síntesis se llevó a cabo adecuadamente, obteniéndose una aproximación del 98.7% con respecto a las unidades planeadas. De estos resultados podemos mencionar que el polímero sintetizado es una opción para su uso como portador de medicamentos.

## Referencias

- [1] Wolfgang Mehnert, Karsten Mäder. *Solid Lipid Nanoparticles Production, Characterization and Applications*. Advanced Drug Delivery Reviews 47 (2001) 165-196
- [2] R. Gref, et al. "The controlled intravenous delivery of drugs using PEG-coated sterically stabilized nanospheres". Adv. Drug Del. Rev. 16 (1995) 215-233.
- [3] Daly, W., Poché D. "The Preparation of N-Carboxyanhydrides of  $\alpha$ -Amino Acids Using Bis(trichloromethyl)carbonate". Tetrahedron Letters (1988), Vol. 29, No. 46, pp 5859-5862.
- [4] R. Katakai, Y. Iizuka. "An Improved Method for the Synthesis of N-Carboxy- $\alpha$ -Amino Acid Anhydrides using Trichloromethyl Chloroformate". J. Org. Chem (1985), Vol. 50, pp 715-716.
- [5] G. Kwon, et. al. "Polimeric Micelles as New Drug Carriers". Adv. Drug Del. Rev. 21 (1996) 107-116.