



NANOPARTICULAS DE PLGA DECORADAS CON DERIVADOS DE BIOTINA PARA LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS

Nudel, Exequiel

Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química INTEC-CONICET

Directora: Vaillard, Victoria

Área: Ciencias Exactas

Palabras claves: Biotina, PLGA, Nanopartículas.

INTRODUCCIÓN

El ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA) es un poliéster alifático de características hidrofóbico, biocompatible, termoplástico y sintético utilizado exitosamente en el campo de la liberación controlada de drogas debido a que es fácilmente biodegradado por el organismo. La utilización de nanopartículas (NP) (100-300 nm) obtenidas a partir de emulsiones de PLGA, han demostrado una baja toxicidad sistémica en aplicaciones biomédicas (Elmowafy, Tiboni y Soliman, 2019).

Las NP tienen gran potencial como sistemas de administración de fármacos para muchos agentes terapéuticos, en particular, para la administración de fármacos utilizados en el tratamiento del cáncer. Este tipo de fármacos, poseen la desventaja, de presentar efectos colaterales adversos, asociados a que afectan tanto a tejido tumoral como sano. Una estrategia tecnológica prometedora, para resolver estos inconvenientes, es la **dirección activa** de fármacos, es decir optimizar la concentración de NP y la liberación de drogas encapsuladas en sitios de interés, lo cual puede lograrse decorando superficialmente las NP con sustratos para receptores celulares específicos (Rezvantlab, Drude, Moraveji, Güvener, Koons, Shi, Lammers, Kiessling, 2018). Otro aspecto importante, es lograr un rango de tamaño de NP bajo, y de esta manera garantizar, que las mismas, superen las barreras biológicas y lleguen al sitio de la acción deseado (Danhier, Ansorena, Silva, Coco, Le Breton, and Prát, 2012; Berthet, Gauthier, Lacroix, Verrier, and Monge, 2017).

El objetivo de este trabajo es sintetizar derivados de biotina (vitamina para la cual se encuentran sobreexpresados los receptores celulares en varios tipos de tumores) hidrofóbicos, y utilizarlos en la obtención de NP de PLGA, mediante una emulsión orgánica/acuosa (OW). Es de esperar que la fracción hidrofóbica del éster se ancle a la matriz polimérica, mientras que los grupos hidrofílicos de biotina queden expuestos en la superficie de la NP. Por otro lado, se propone evaluar diferentes variables experimentales, para determinar su efecto en el tamaño y distribución de las NP obtenidas. De esta manera, se

Título del proyecto: DISEÑO RACIONAL, SÍNTESIS Y EVALUACIÓN DE NUEVOS BIO-ELASTÓMEROS DE ÁCIDOS DICARBOXÍLICOS CON POLIOLES Y PEG CON APLICACIONES EN INGENIERÍA DE TEJIDOS.

Instrumento: PICT

Año de convocatoria: 2017

Organismo financiador: CONICET

Directora: Vaillard, Victoria





espera obtener NP decoradas con biotina y de tamaño adecuado, con potencial aplicación en la dirección activa de fármacos.

OBJETIVOS

- Sintetizar ésteres de biotina por reacciones de esterificación de Steglich.
- Caracterizar los ésteres de biotina por espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN).
- Sintetizar nanopartículas de PLGA decoradas exteriormente por derivados de biotina esterificada con ácidos grasos saturados.
- Caracterizar las NP por técnicas de DLS.

METODOLOGÍA

Todos los reactivos químicos empleados en esta investigación fueron de grado analítico.

Síntesis y purificación de éster de biotina.

Para la síntesis del éster de biotina, se siguió un método reportado en bibliografía, con pocas modificaciones (Caswell, Wilson, Bunz and Murphy, 2003). En un tubo Schlenk con agitación magnética y en atmósfera inerte, se disolvieron 2 mmoles (0,4833 g) de biotina en 25 mL de dimetilformamida (DMF) seca. A esta solución, se le agregaron 2,4 mmol (0.4941 g) de *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC), 4-Dimetilaminopiridina (DMAP, catalítico) y 20 mmol (4,5 mmol) de 1-dodecanol. La solución se mantuvo bajo agitación 24 h. Pasado este tiempo, se agregó una solución saturada de cloruro de sodio y se extrajo la reacción con diclorometano (fase orgánica). Se separó la fase orgánica en una ampolla de decantación, se secó con sulfato de sodio y se concentró al vacío. La DMF remanente se eliminó por destilación a presión reducida. El producto puro se obtuvo como un sólido blanco (0,6603 g, 80 % de rendimiento), luego de purificarse por cromatografía en columna en silicagel, utilizando un gradiente de elución de solvente (acetato de etilo:metanol). El producto puro fue caracterizado por Resonancia Magnética Nuclear (¹H RMN)

Preparación de nanopartículas de PLGA

Para la obtención de nanopartículas (NP) de PLGA se necesitó de la preparación de una emulsión O/W, con una fase orgánica volátil (O) de 0,5 ml cloroformo donde se disolvieron 25 mg de PLGA y distintas cantidades del éster de biotina, y una solución acuosa al 3% p/v de polivinilalcohol (W), que cumple una función surfactante. La emulsión O/W se obtuvo, utilizando un sonicador de punta (130 W, CPX130PB, Cole-Palmer) durante 2 min, en baño de hielo. Luego se agregaron 3 mL de buffer fosfato salino (PBS) y se evaporó el solvente orgánico, obteniéndose una suspensión de NP. El tamaño y distribución de las NP se determinó por Dispersión Dinámica de luz (DLS, Anton Paar – Litesizer 500).

RESULTADOS

Se obtuvo el éster derivado de biotina **1**, en rendimiento y pureza adecuada, determinada por ¹HRMN (Figura 1). El derivado **1**, posee una fracción hidrofóbica (destacada en verde), que permite su solubilización en cloroformo, solvente de elección para la síntesis de las NP. Por otro lado, la fracción hidrofóbica, permite el



anclaje del derivado en la matriz polimérica, mientras que la biotina (en rojo) se espera quede expuesta en la superficie de la NP, expuesta al medio acuoso.

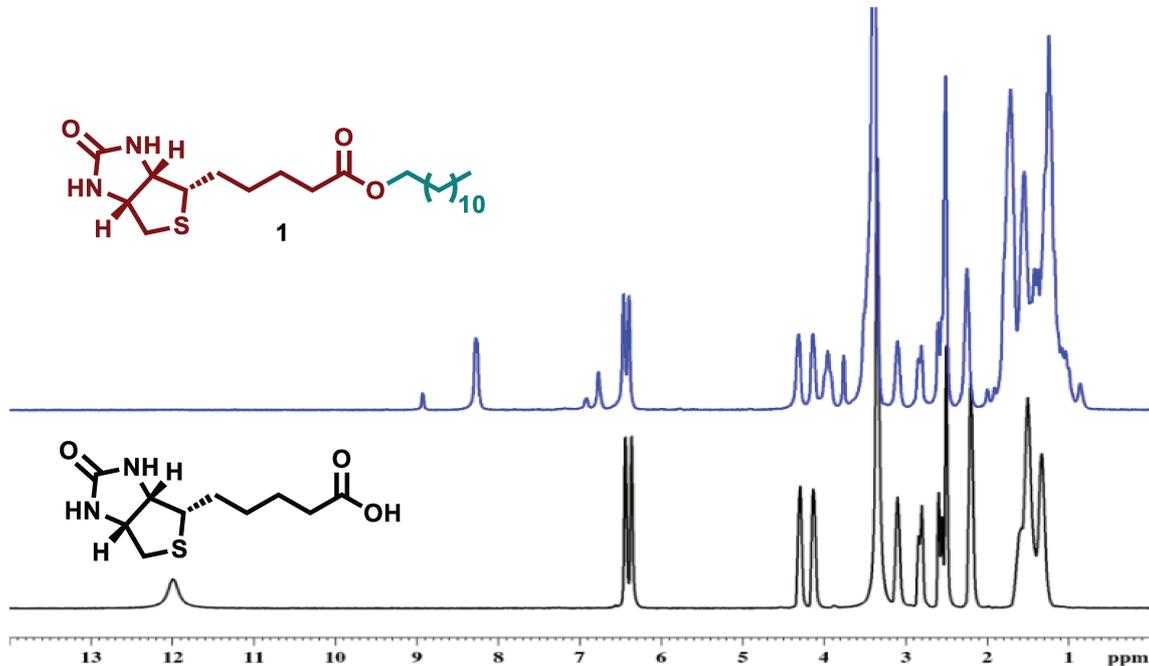


Figura 1: $^1\text{HMRN}$ (DMSO-d_6) de biotina (negro) y éster derivado (azul). Se observa la desaparición de la señal característica de $-\text{OH}$ del grupo ácido (12 ppm) y la incorporación de fracción hidrofóbica (región 1-2 ppm).

Para la obtención de las NP, se utilizó un método de emulsión O/W. En la Tabla 1 se pueden observar las condiciones de ensayo evaluadas: Todos los ensayos se realizaron por triplicado para evaluar su reproducibilidad. En la Tabla 1 además, se muestran los tamaños de las partículas predominantes obtenidos para cada ensayo.

Tabla 1: Síntesis de NP PLGA

Experimento	PVA [3%]	PLGA [gr]	1 [gr]	Evaporación	Resultados DLS
					\overline{D}_1 [nm]
1	APN	0,025	-	A	369
2	APN	0,025	0,0025	A	614
3	APN	0,025	-	B	963
4	APN	0,025	0,0025	B	381
5	205	0,025	-	B	187
6	205	0,025	0,0025	B	255
7	502	0,025	-	B	210
8	502	0,025	0,0025	B	161
9	502	0,025	0,0050	B	147

Polivinilalcohol (PVA) utilizado (APN: 205 KDa, PVA-205: 31-50 KDa y PVA-502: 13-23 KDa), método de evaporación de solvente (A: presión reducida, 2 h; B: presión atmosférica, 24 h) y agregado de 1.



CONCLUSIONES

Se sintetizó un éster derivado de biotina **1**, con una fracción hidrofóbica, en un excelente rendimiento aislado (80 %). Se evaluó el efecto del peso molecular de PVA utilizado en la síntesis de las NP, y se encontró que el tamaño de partícula es menor al utilizar PVA de menor PM. Por otro lado, el tamaño de partícula fue menor al evaporar el solvente a presión atmosférica 24 h. También se obtuvieron NP de tamaño adecuado, al agregar el éster **1**. Como proyecciones de este trabajo, se realizará la caracterización completa (técnicas microscópicas, degradación *in vitro* y grado de recubrimiento con biotina) de las NP obtenidas y se evaluarán las mismas como sistemas de liberación controlada de fármacos (Paclitaxel).

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Berthet, M., Gauthier, Y., Lacroix, C., Verrier, B., and Monge, C., 2017.** *Nanoparticle-based dressing: the future of wound treatment?* Trends Biotechnol. 35, 770–784.
- Caswell, K. K., Wilson, J. N., Bunz, U. H., & Murphy, C. J., 2003.** *Preferential end-to-end assembly of gold nanorods by biotin– streptavidin connectors.* Journal of the American Chemical Society, 125(46), 13914-13915.
- Danhier, F., Ansorena, E., Silva, J. M., Coco, R., Le Breton, A., and Préat, V., 2012.** *PLGA-based nanoparticles: an overview of biomedical applications.* J. Control. Release 161, 505–522.
- Elmowafy, E. M., Tiboni, M., and Soliman, M. E., 2019.** *Biocompatibility, biodegradation and biomedical applications of poly (lactic acid)/poly (lactic-co-glycolic acid) micro and nanoparticles.* Journal of Pharmaceutical Investigation, 49(4), 347-380.
- Karp F., Busatto C., Turino L.N., Luna J.A., Estenoz, D., 2019.** *PLGA nano- and microparticles for the controlled release of florfenicol: Experimental and theoretical study.* Journal of Applied Polymer Science 136 (12): 47248.
- Mariano y col., 2014.** *Design of PLGA based nanoparticles for imaging guided applications.* Molecular Pharmaceutics 11(11): 4100–4106.
- Rezvantalab S, Drude NI, Moraveji MK, Güvener N, Koons EK, Shi Y, Lammers T, Kiessling F., 2018.** *PLGA-Based Nanoparticles in Cancer Treatment.* Front Pharmacol 9:1260.
- Turino L.N. y col. (2018).** *Nanoparticles obtained by Confined Impinging Jet Mixer: Poly(lactide-co-glycolide) vs. Poly-ε-caprolactone.* Drug Development and Industrial Pharmacy 44: 934-941.