

SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS FLUORESCENTES BASADAS EN CORROLES

Giorda, Valentina

Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química INTEC-CONICET

Director: Neuman, Nicolas
Codirectora: Navarro, Lucila

Área: Ciencias Naturales

Palabras claves: Corroles, Nanopartículas, Fluorescencia.

INTRODUCCIÓN

Los corroles son macrociclos porfirinoides que se destacan, entre otras propiedades, por su intensa absorción en el rango de luz visible, fluorescencia y su capacidad fotosensibilizadora para generar oxígeno singlete (Shao, W. 2012). Estas características les confieren un gran potencial en el diagnóstico y terapia fotodinámica para tratamiento de ciertos tumores y enfermedades infecciosas. Sin embargo, su insolubilidad en agua hace que requieran de una vehiculización, la cual, en este trabajo, trata de nanopartículas (NPs) poliméricas biocompatibles que permiten el encapsulamiento de los fluoróforos, basadas en polímeros como ácido poliláctico (PLA), cargadas con corroles fluorescentes conteniendo grupos pentafluorofenilo y metil-ésterfenilo. Estas NPs presentan características finales que dependen de la concentración inicial del polímero y del corrol, la elección del solvente orgánico y su proporción (Couvreur, P. 2015).

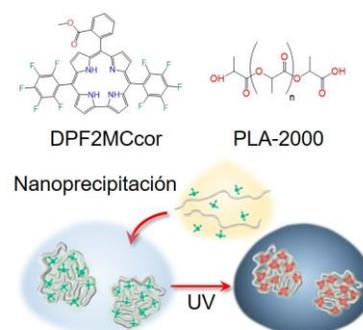


Figura 1. Esquema de moléculas de corrol DPF2MC y PLA (panel superior) y de una NP.

OBJETIVOS

Preparar nanopartículas compuestas por un corrol fluorescente (DPF2MCcor, Figura 1), y un polímero (PLA-2000, Figura 1) caracterizarlas por diversas técnicas y analizar las causas de la

Título del proyecto: Síntesis de nanopartículas fluorescentes basadas en corroles (AFE 281, FBCB)
Año de convocatoria: 2023
Organismo financiador: UNL, CONICET PIP 2022-0408, ASACTEI PEICID-2022-212
Director: Neuman, Nicolas. Asistente: Navarro, Lucila

disminución de la fluorescencia en el tiempo.

METODOLOGÍA

Síntesis y caracterización de nanopartículas

El corrol utilizado es 5,15-bis(2,3,4,5,6-pentafluorofenil)-10-(2-metilcarboxifenil)corrol, el cual fue sintetizado anteriormente por el director del trabajo. Las nanopartículas fueron sintetizadas por la técnica de nanoprecipitación, utilizando múltiples concentraciones iniciales de corrol y polímero, disueltos en solventes orgánicos, como tetrahidrofurano (THF) o dimetilsulfóxido (DMSO). Dichas soluciones son goteadas en buffer acuoso con el surfactante dodecil sulfato de sodio (SDS) bajo vigorosa agitación, con un tiempo de 30 segundos entre gotas (Park, K. 2016). La distribución de tamaños y el índice de polidispersidad se determinaron por dispersión dinámica de luz (DLS). La espectroscopía UV/visible se empleó para determinar el estado de protonación y oxidación del corrol, ya que las bandas Soret (400-450 nm) y Q (500-700 nm) son muy sensibles a estos factores.

Fluorescencia de las nanopartículas y estabilidad en el tiempo

Habiendo optimizado la síntesis de NPs en cuanto a su tamaño, se varió la concentración relativa de corrol a polímero, y la presencia de una base (TEA). El corrol y las NPs se caracterizaron por espectrofluorimetría y la fluorescencia de las suspensiones de NPs se determinó semicuantitativamente por fotografía.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

A partir de la optimización de la concentración de PLA en THF y la velocidad de goteo, se obtuvieron NPs con tamaños entre 114 y 198 nm, determinados por DLS. Se observó, como se muestra en la Figura 2, que la fluorescencia aumenta cuando disminuye la concentración de corrol en la NP (valores en Tabla 1), de izquierda a derecha. Esto se explica mediante la hipótesis de que las moléculas de corrol en la NP, a mayor concentración, se encuentran más agregadas, lo que disminuye su fluorescencia mediante varios mecanismos de extinción (“quenching”).

Tabla 1. Concentraciones finales de DPF2MCcor y PLA en las NPs mostradas en la figura 1.

DPF2MCcor (mg/mL)	0.07048	0.07048	0.05501	0.02819	0.01409	0.00367	0.00184
PLA (mg/mL)	0	0.09298	0.11793	0.14877	0.16737	0.18838	0.19204
% DPF2MCcor (mg/mg)	100	43.1	31.8	15.9	7.8	1.9	0.95

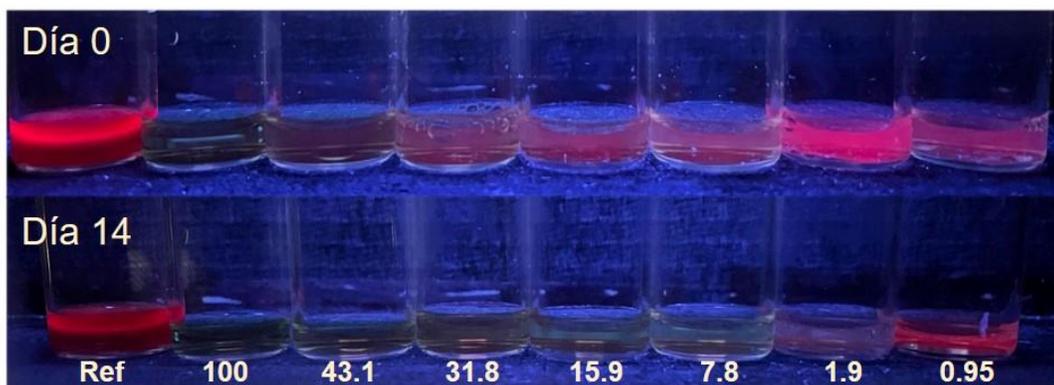


Figura 2. Fotografía de suspensiones de nanopartículas de DPF2MCcor y PLA recién sintetizadas ($t = 0$ días, panel superior) y luego de 14 días (panel inferior). El porcentaje de DPF2MCcor (masa/masa) disminuye de izquierda a derecha, y se indica para cada tubo en el panel inferior.

Para todas las concentraciones de corrol, la fluorescencia decrece en un plazo de minutos a horas, debido a la agregación de los corroles dentro de las NPs a medida que el solvente orgánico (THF) difunde hacia el medio acuoso, lo que presumiblemente disminuye el tamaño de las NPs. En el panel inferior de la Figura 2, se muestra que luego de 14 días, solo las que presentan concentraciones más bajas de corrol (1.9 y 0.95 %) mantienen su fluorescencia. Para aumentar la fluorescencia de los corroles utilizamos bases orgánicas (trietilamina, TEA, y tributilamina, TBA) para deprotonar uno de los grupos NH de los corroles. Esto se debe a que los corroles aniónicos (corH_2^-) poseen mayor fluorescencia que los corroles neutros (corH_3), debido a la planarización del anillo, por la reducción de la repulsión estérica entre los protones de la cavidad corrólica. (Bursa, B. 2016). En la Figura 3, se muestran los espectros UV/Vis de DPF2MCcor disuelto en THF con una concentración de 4.32 mg/mL (rojo) y el mismo corrol deprotonado por la adición de TEA en exceso (rosado). Se observaron cambios en las posiciones de los máximos de las bandas Soret y las bandas Q ante este fenómeno de deprotonación. Además, se identificó un fenómeno visual ya que el corrol disuelto en THF cambia a de un color azul a verde luego de su deprotonación. En la Figura 4, los espectros de excitación y emisión del corrol también permiten observar el aumento de intensidad de fluorescencia que presenta tras ser deprotonado con TEA, (negro y gris) en comparación con el corrol sin deprotonar (verde). A su vez, se observan cambios en el espectro de excitación en función de la concentración del corrol (rojo oscuro y verde), que sugieren fenómenos de

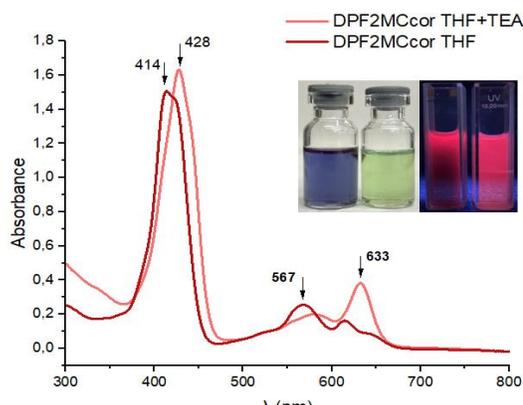


Figura 3. Espectros de DPF2MCcor antes (rojo) y después (rosado) de la titulación con TEA en THF. Inset: Fotografía de las soluciones iluminadas con luz natural (panel derecho), a la izquierda el corrol diluido y a su derecha el corrol deprotonado, y las mismas bajo luz ultravioleta.

agregación.

Como conclusión, se optimizó la preparación de nanopartículas de PLA con tamaños entre 114 y 198 nm, utilizando la técnica de nanoprecipitación. Se prepararon nanopartículas fluorescentes de PLA con el corrol DPF2MCor, y se observó que la fluorescencia disminuía en el tiempo debido a la agregación del corrol dentro de la NP. Este efecto es menor para concentraciones muy bajas de corrol, siendo posible obtener nanopartículas fluorescentes estables al menos 14 días. Se observó que la fluorescencia aumenta al deprotonar el corrol con una base moderadamente fuerte, y se está explorando el uso de bases voluminosas para inhibir la agregación de los corroles dentro de las NPs, y aumentar la carga de corrol.

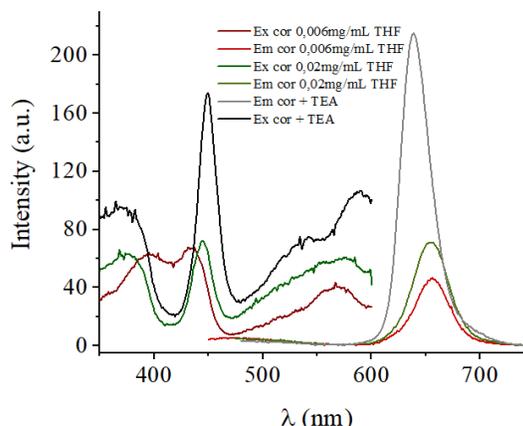


Figura 4. Espectros de excitación ($\lambda_{em} = 654$) y emisión ($\lambda_{ex} = 445$) de fluorescencia de DPF2MCor en THF.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Andreiuk, B.** 2019. Fighting aggregation-caused quenching and leakage of dyes in fluorescent polymer nanoparticles: universal role of counterion. *Chemistry—An Asian Journal* 14.6: 836-846.
- Beck-Broichsitter, M.** et al. 2015. Solvent selection causes remarkable shifts of the “Ouzo region” for poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles prepared by nanoprecipitation.
- Bursa, B.** et al 2016. Solvent impact on the singlet and triplet states of selected fluorine corroles – absorption, fluorescence, and optoacoustic studies.
- Oppenheim, J.** et al. 2019. Structures and spectroscopic properties of metallocorrole nanoparticles. *Inorganic chemistry* 58.15: 10287-10294.
- Orłowski, R.** et al. 2017. Hydrogen bonds involving cavity NH protons drives supramolecular oligomerization of amido-corroles. *Chemistry—A European Journal* 23.42: 10195-10204.
- Park, K.** et al. 2016. PLA micro-and nano-particles. *Advanced drug delivery reviews* 107: 176-191.
- Shao, W.** et al. 2012. Photophysical properties and singlet oxygen generation of three sets of halogenated corroles. *The Journal of Physical Chemistry B* 116.49: 14228-14234.