

DESARROLLO DE NUEVAS TECNOLOGÍAS PARA LA PEGILACIÓN DE DROGAS DE BAJO PESO MOLECULAR Y DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

Oggero, Julia¹

¹*Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química INTEC-CONICET*

Director: Vaillard, Santiago E.
Codirectora: Vaillard, Victoria A.

Área: Ciencias exactas

Palabras claves: Crisina, PEGilación, Solubilidad

INTRODUCCIÓN

La conjugación a poli-(etilen glicol) (PEG) es una estrategia muy eficiente para mejorar los perfiles farmacocinéticos y farmacodinámicos de péptidos y proteínas de uso terapéutico. Durante los últimos 20 años esta tecnología, conocida como PEGilación, ha tenido un gran impacto en el mercado bio-farmacéutico a escala global y en la actualidad más de 15 productos PEGilados se encuentran disponibles en el mercado. La PEGilación disminuye la degradación proteolítica y el reconocimiento por el sistema inmune, al mismo tiempo que disminuye la tasa de filtración renal. La suma de estos efectos se traduce en un aumento del tiempo de vida media plasmático del bioconjugado. Los bioconjugados de mayor éxito comercial involucran, usualmente, el empleo de polímeros de elevado peso molecular (12-40 KDa) y relaciones equimoleculares PEG/proteína (productos mono-PEGilados). Así, la baja carga molar de principio activo por mol de polímero que puede lograrse, sumado a los costos muy elevados y acceso limitado a los "PEGs activados", necesarios para obtener los bioconjugados, hicieron que durante varios años sólo la conjugación de drogas de elevado peso molecular (péptidos y proteínas) sea lo suficientemente atractiva y práctica como para superar las barreras de desarrollo, que finalmente permitieron validar tanto la utilidad como la ecuación económica de la tecnología de PEGilación. Sin embargo, durante los últimos 10 años, la mejora de los métodos de polimerización, la introducción de nuevos principios activos de elevada potencia, el surgimiento de nuevos objetivos terapéuticos y la necesidad de nuevas plataformas liberadoras de drogas y pro-drogas que no posean efectos adversos, han allanado el camino hasta tal punto que hoy en día la PEGilación de drogas de bajo peso molecular es no sólo tecnológicamente aceptable, sino también económicamente atractiva, si se seleccionan adecuadamente tanto el objetivo terapéutico y el ingrediente activo por una lado, como el PEG y la química de unión por otro.

Título del proyecto: DESARROLLO DE NUEVAS TECNOLOGÍAS PARA LA PEGILACIÓN DE DROGAS DE BAJO PESO MOLECULAR Y DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

Instrumento: PICT Grupos de reciente formación

Año convocatoria: 2016

Organismo financiador: ANCYPT

Director/a: Vaillard, Santiago

Los flavonoides, son una gran familia de compuestos polifenólicos sintetizados por las plantas como metabolitos secundarios. Poseen una amplia gama de propiedades como efectos bioactivos antivirales, antiinflamatorios, cardioprotectores, antidiabéticos, anticancerígenos, etc. Entre ellos, la crisina (**1**) (5,7-dihidroxi-flavona) es una flavona natural que se encuentra abundantemente en extractos de plantas, miel y propóleo de abeja. Esta exhibe un amplio espectro de propiedades farmacológicas y medicinales; entre las que se destaca su elevada capacidad antioxidante. Por ello, es un compuesto de especial interés que puede ser incorporado en diferentes productos farmacéuticos o como aditivo alimenticio.

Sin embargo, estas aplicaciones están limitadas por la baja biodisponibilidad de este flavonoide. La solubilidad de (**1**) es casi nula en medios acuosos, como los fluidos gastrointestinales, y es fácilmente degradada por la flora intestinal, impidiendo que la misma llegue al organismo. Por ello, es necesario el desarrollo de plataformas tecnológicas capaces de mejorar sus propiedades fisicoquímicas y de impedir la degradación en el proceso digestivo de este flavonoide de bajo peso molecular.

OBJETIVO

Los objetivos del trabajo son: a) PEGilar, vía la formación de enlace éter crisina con metoxi polietilenglicol (mPEG) de distintos pesos moleculares y b) purificar y caracterizar el conjugado, mediante técnicas espectroscópicas y determinación de diferentes parámetros fisicoquímicos.

METODOLOGÍA

Se conjugó (**1**) con mPEGs de distintos pesos moleculares (350, 500, 750, 2000 gr/mol). La estrategia de síntesis, consta de dos etapas, en la primera se obtuvo mPEG-tosilato, siguiendo un método descrito en bibliografía (mPEG-OTs (**2**)). En la segunda etapa, mediante una reacción de sustitución, se obtiene el conjugado mPEG-crisina (figura 1). Se exploraron diferentes condiciones de reacción, variando relaciones molares, temperatura y tiempo de reacción. Las óptimas fueron: 60°C durante 24 horas. Los conjugados fueron purificados por filtración, la pureza fue determinada por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). Los productos (pureza >90 %) fueron caracterizados por Resonancia Magnética Nuclear (RMN), espectrofotometría UV-visible y Espectroscopía Infrarroja (FT-IR). Por otro lado, se determinaron los valores Concentración Micelar Crítica (CMC), por medición de la Tensión Superficial y de solubilidad acuosa.

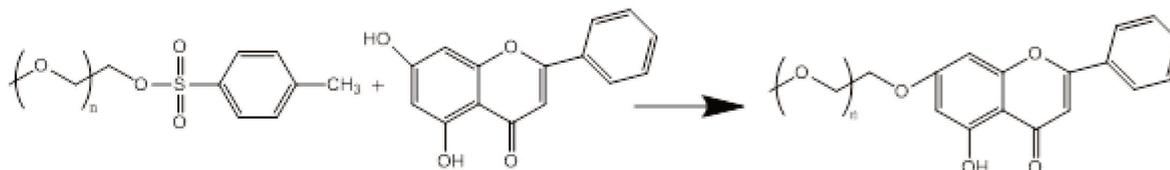


Figura 1: Estrategia de síntesis empleada

CONCLUSIONES

El empleo de crisina, como fármaco o aditivo alimenticio, es de gran interés tecnológico, principalmente por sus variadas propiedades bioactivas. Sin embargo, su empleo se ve restringido, principalmente a su escasa solubilidad en medios acuosos.

Teniendo en cuenta que, la solubilidad de **(1)** en agua es casi nula ($4,13 \times 10^{-4}$ mmol/ml), se observó que la misma aumenta considerablemente cuando está conjugada a mPEG (0.02 mmol/ml_{conjugado350}, 0.02 mmol/ml_{conjugado500}, 0.02 /ml_{conjugado750}, 0.01 /ml_{conjugado2000}). Sin embargo, no se observó una diferencia significativa al variar el peso molecular del polímero utilizado en la conjugación.

Como los conjugados presentan una estructura anfipática (el núcleo de crisina es apolar, mientras que la cadena de polímero es hidrofílica), se evaluó si los conjugados son capaces de formar agregados micelares en solución acuosa. Se determinaron los valores de CMC para cada derivado, observándose que sí los forman pero que no existe diferencia significativa cuando se varía el peso molecular del polímero. Se pudo demostrar que la PEGilación es una estrategia tecnológica prometedora para mejorar las propiedades fisicoquímicas de este tipo de compuesto. En la actualidad, se están realizando ensayos de actividad antimicrobiana, de manera tal, determinar si la PEGilación afecta la actividad biológica de **1**.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

Siddiqui, A., Badruddeen, Akhtar, J., Uddin MS, S., Khan, M. I., Khalid, M., & Ahmad, M. 2018. A naturally occurring flavone (chrysin): chemistry, occurrence, pharmacokinetic, toxicity, molecular targets and medicinal properties. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 8(4), 208-227.

Zheng, H., Li, S., Pu, Y., Lai, Y., He, B., & Gu, Z. 2014. Nanoparticles generated by PEG-Chrysin conjugates for efficient anticancer drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 87(3), 454-460.