

Orellano M. Soledad (a), Chiapetta Diego A. (b), Silber Juana J. (a), Falcone R. Dario (a), Correa N. Mariano (a)

(a) Instituto para el Desarrollo Agroindustrial y de la Salud (IDAS), CONICET.

(b) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica.

E-mail: orellano.ms@gmail.com

INTRODUCCIÓN

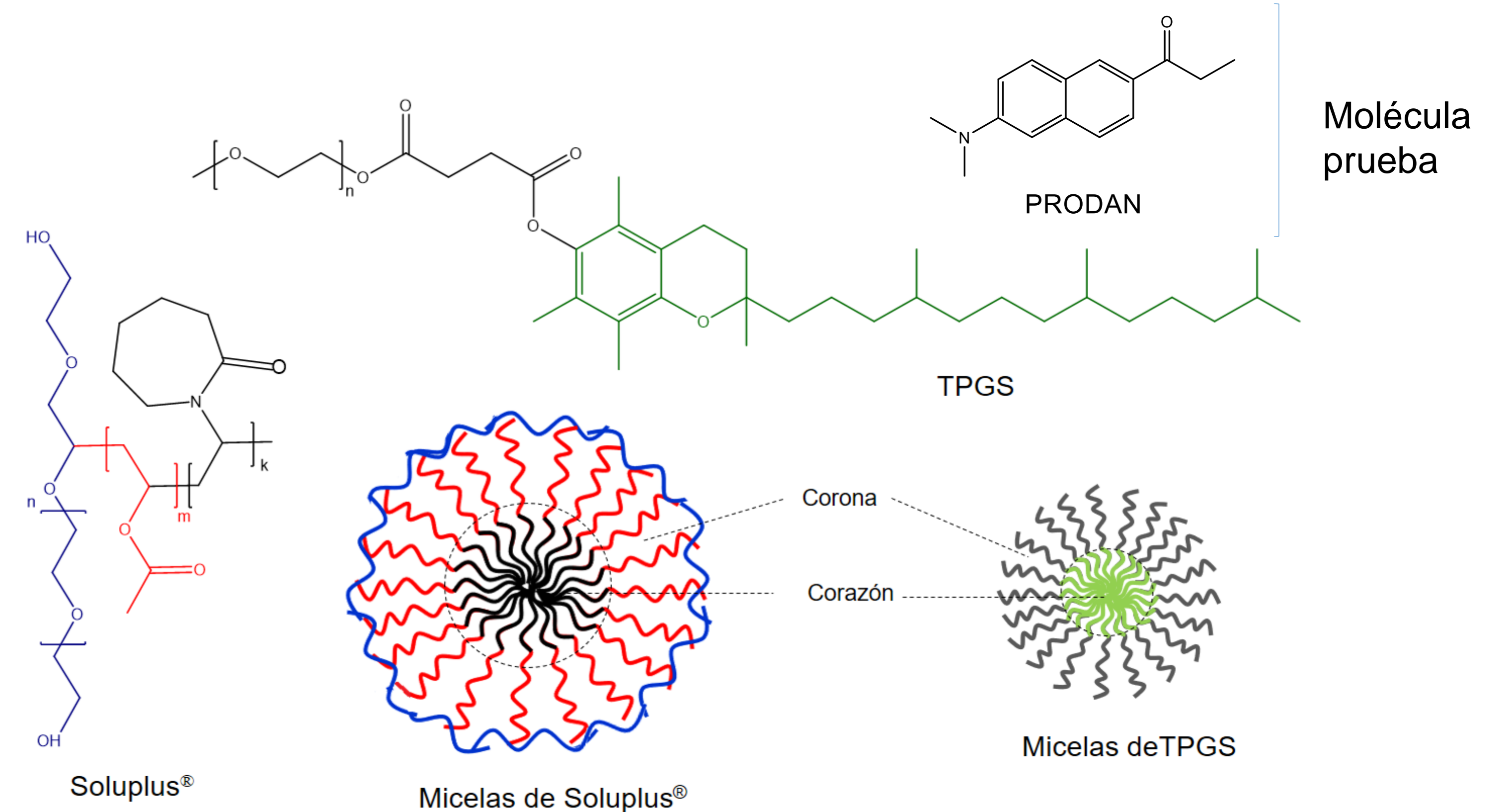
6-propionil-2-dimetilaminonaftaleno (PRODAN) es una molécula fluorescente extremadamente sensible a la polaridad/polarizabilidad y capacidad de formar puente de hidrógeno del microambiente.¹ Se ha utilizado ampliamente como molécula prueba para estudiar sistemas organizados, como vesículas y micelas inversas. Sin embargo, su empleo en la caracterización de otros sistemas, tales como las micelas poliméricas (MP), ha sido escasamente estudiado. Las MP son agregados formados por el autoensamblado de polímeros anfífilicos en agua. Estas han mostrado grandes atributos para ser utilizadas como sistemas de administración de fármacos.² Este trabajo propone estudiar el uso de la molécula PRODAN para caracterizar MP. Para ello, se eligieron dos polímeros sintéticos: succinato de D- α -tocoferil polietilenglicol 1000 (TPGS) y polivinilcaprolactama-acetato de polivinilo-polietilenglicol 6000 (Soluplus®) para formar en agua sistemas micelares modelo.

1. Moyano, F. y col. *J Phys Chem B*, 2006, 110 (24), 11838–11846.

2. Cagel, M. y col. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2017, 113, 211–228

OBJETIVOS

Caracterizar micelas de TPGS y Soluplus® utilizando PRODAN como molécula prueba. Comparar el comportamiento de la molécula prueba en ambos sistemas para obtener información de cómo es el medio que estas micelas proveen para encapsular fármacos.



RESULTADOS

Determinación del diámetro de micelas de TPGS y Soluplus® por DLS

Tabla 1. Tamaño (D) e índice de polidispersidad (IP) de MP de TPGS y Soluplus® en agua. [TPGS] = 6.6×10^{-3} M; [Soluplus®] = 8.5×10^{-5} M; T = 25 °C

Sistema micelar	D(nm)	IP
TPGS	10	0.06
Soluplus®	76	0.2

Caracterización de micelas de TPGS y Soluplus® utilizando PRODAN: espectroscopia de fluorescencia en estado estacionario

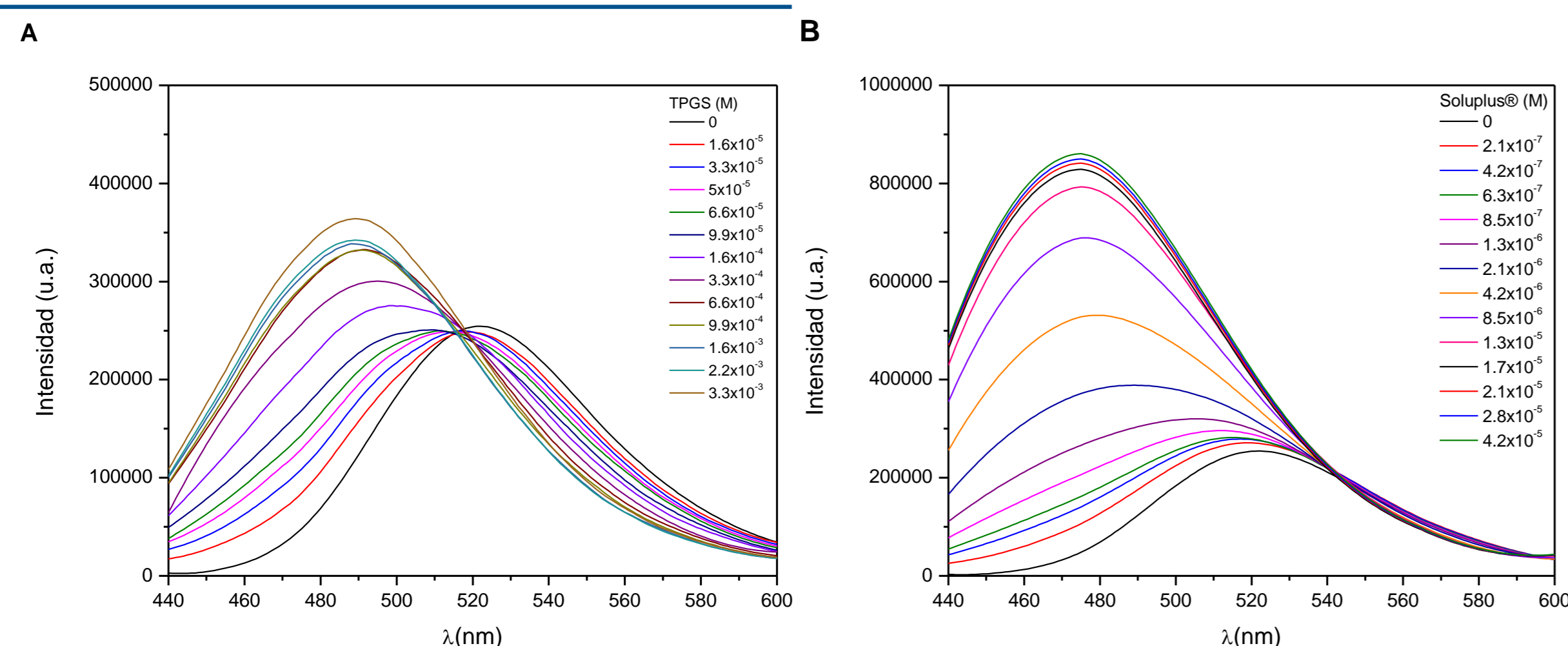


Figura 1. Espectros de emisión de PRODAN en (A) TPGS y (B) Soluplus® a diferentes concentraciones de polímero. [PRODAN] = 5×10^{-6} M. λ_{exc} = 420 nm.

La máxima de emisión de PRODAN se desplaza a menores λ en micelas de Soluplus® \rightarrow PRODAN censa un entorno menos polar en micelas de Soluplus®

PRODAN se incorpora completamente a [TPGS] > 9.9×10^{-4} M y [Soluplus®] > 2.1×10^{-5} M (no cambia λ_{em})

Determinación de la constante de partición de PRODAN (Kp)

Modelo de pseudofases: PRODAN se puede encontrar solubilizado en dos pseudofases, micela y agua

$$PRODAN_w \rightleftharpoons PRODAN_b \rightleftharpoons PRODAN_m \rightarrow K_p = \frac{[PRODAN]_b}{[PRODAN]_w} \rightarrow I = \frac{I_0(\phi_w + \phi_b K_p [SP])}{(1 + K_p [SP])}$$

Tabla 2. Constante de partición (K_p) de PRODAN en micelas de TPGS y Soluplus®. Las intensidades de emisión se recogieron a $\lambda = 480$ nm. $\lambda_{exc} = 420$ nm.

Sistema micelar	K_p (M ⁻¹)
TPGS	8238 ± 368
Soluplus®	346354 ± 18000

PRODAN se incorpora más en micelas de Soluplus®

Cambios en los espectros de emisión al excitar la molécula al rojo del máximo de la banda de absorción. Red-edge excitation shifts (REES)

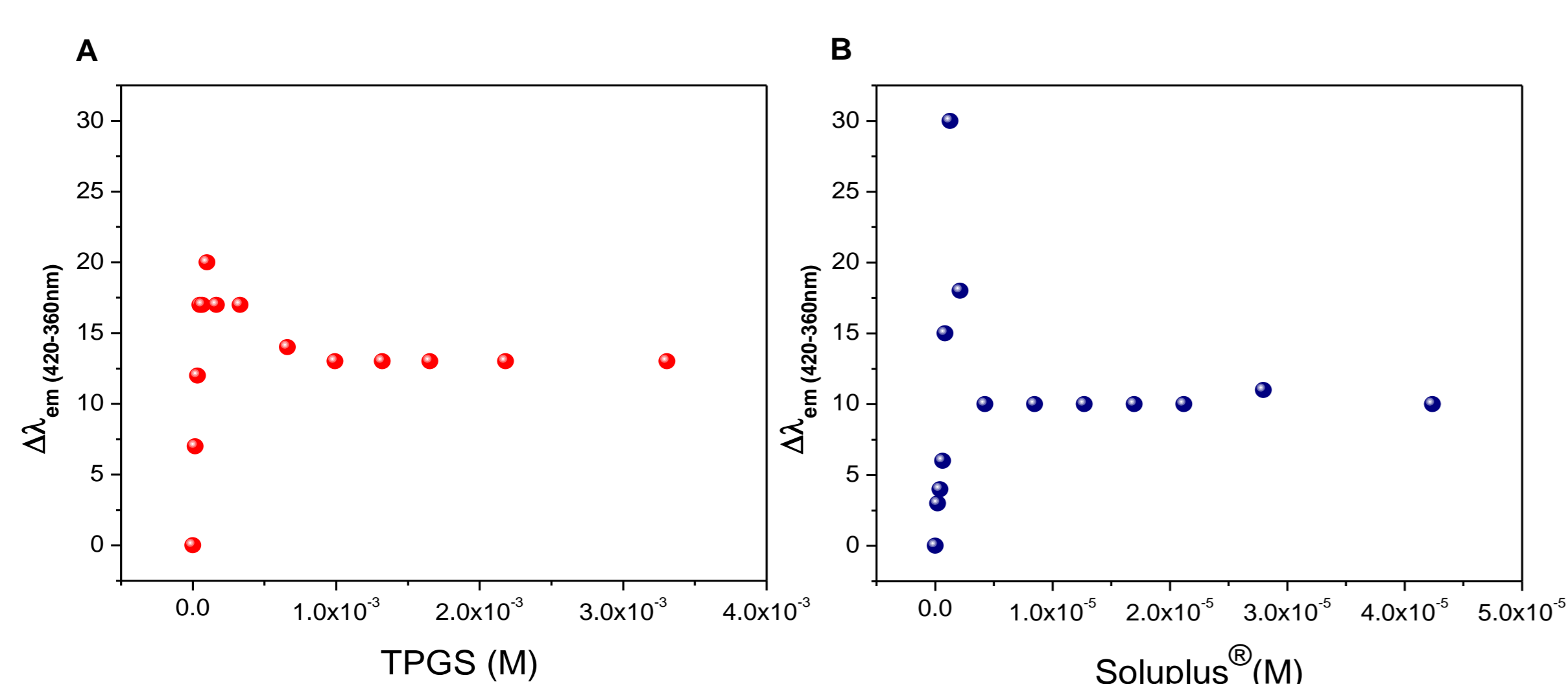


Figura 2. REES de PRODAN a diferentes concentraciones de (A) TPGS and (B) Soluplus®. REES = $\Delta\lambda_{em} = (\lambda_{em}(exc\ 420nm) - \lambda_{em}(exc\ 360nm))$. [PRODAN] = 5×10^{-6} M.

PRODAN exhibe menor REES cuando se encuentra completamente incorporado en micelas de Soluplus®

El entorno que censa PRODAN en las micelas de Soluplus® es más fluido

Determinación de tiempos de vida de fluorescencia de PRODAN

Tabla 3. Tiempos de vida de fluorescencia (τ , ns) de PRODAN en micelas de TPGS y Soluplus®. [PRODAN] = 5×10^{-6} M.

TPGS (M)	λ_{exc} =370 nm λ_{em} =520 nm	χ^2	Soluplus® (M)	λ_{exc} =370 nm λ_{em} =520 nm	χ^2
0	$\tau_1 = 0.62 \pm 0.04$ (51 %) $\tau_2 = 1.97 \pm 0.08$ (49 %)	1.124	0	$\tau_1 = 0.62 \pm 0.04$ (51 %) $\tau_2 = 1.97 \pm 0.08$ (49 %)	1.124
3.3×10^{-5}	$\tau_1 = 0.79 \pm 0.01$ (44 %) $\tau_2 = 3.86 \pm 0.04$ (56 %)	1.200	4.2×10^{-7}	$\tau_1 = 0.78 \pm 0.003$ (56 %) $\tau_2 = 3.22 \pm 0.096$ (40 %)	1.133
6.6×10^{-5}	$\tau_1 = 0.77 \pm 0.08$ (26 %) $\tau_2 = 4.17 \pm 0.03$ (74 %)	1.045	8.5×10^{-7}	$\tau_1 = 0.82 \pm 0.03$ (47 %) $\tau_2 = 3.91 \pm 0.08$ (53 %)	1.137
1.6×10^{-4}	$\tau_1 = 0.60 \pm 0.03$ (9 %) $\tau_2 = 4.31 \pm 0.02$ (91 %)	1.160	2.1×10^{-6}	$\tau_1 = 0.81 \pm 0.04$ (27 %) $\tau_2 = 4.31 \pm 0.06$ (73 %)	1.131
6.6×10^{-4}	$\tau = 4.54 \pm 0.01$ (100 %)	1.207	8.5×10^{-6}	$\tau_1 = 0.83 \pm 0.09$ (10 %) $\tau_2 = 4.50 \pm 0.05$ (90 %)	1.125
9.9×10^{-4}	$\tau = 4.59 \pm 0.01$ (100 %)	1.309	1.3×10^{-5}	$\tau_1 = 1.00 \pm 0.15$ (8 %) $\tau_2 = 4.50 \pm 0.05$ (92 %)	1.046
3.3×10^{-3}	$\tau = 4.42 \pm 0.02$ (100 %)	1.098	4.2×10^{-5}	$\tau = 4.4 \pm 0.02$ (100 %)	1.010

Concentración de polímero

- Al aumentar la concentración de polímero, aumenta la contribución de PRODAN en la micela
- Se corrobora que PRODAN se incorpora completamente a [TPGS] > 9.9×10^{-4} M y [Soluplus®] > 2.1×10^{-5} M

Micropolaridad de las micelas TPGS y Soluplus®

$$E_T(30) = 147 \pm 5 - (1.62 \pm 0.02) E_{emi\ PRODAN}$$

Tabla 4. Valores de $E_T(30)$ para micelas de TPGS y Soluplus®. [TPGS] = 3.3×10^{-3} M; [Soluplus®] = 4.2×10^{-5} M; [PRODAN] = 5×10^{-6} M; $\lambda_{exc} = 420$ nm. α y β son los parámetros de Kamlet-Taft de los disolventes (capacidad de donador de puente hidrógeno y capacidad de aceptora de puente hidrógeno).

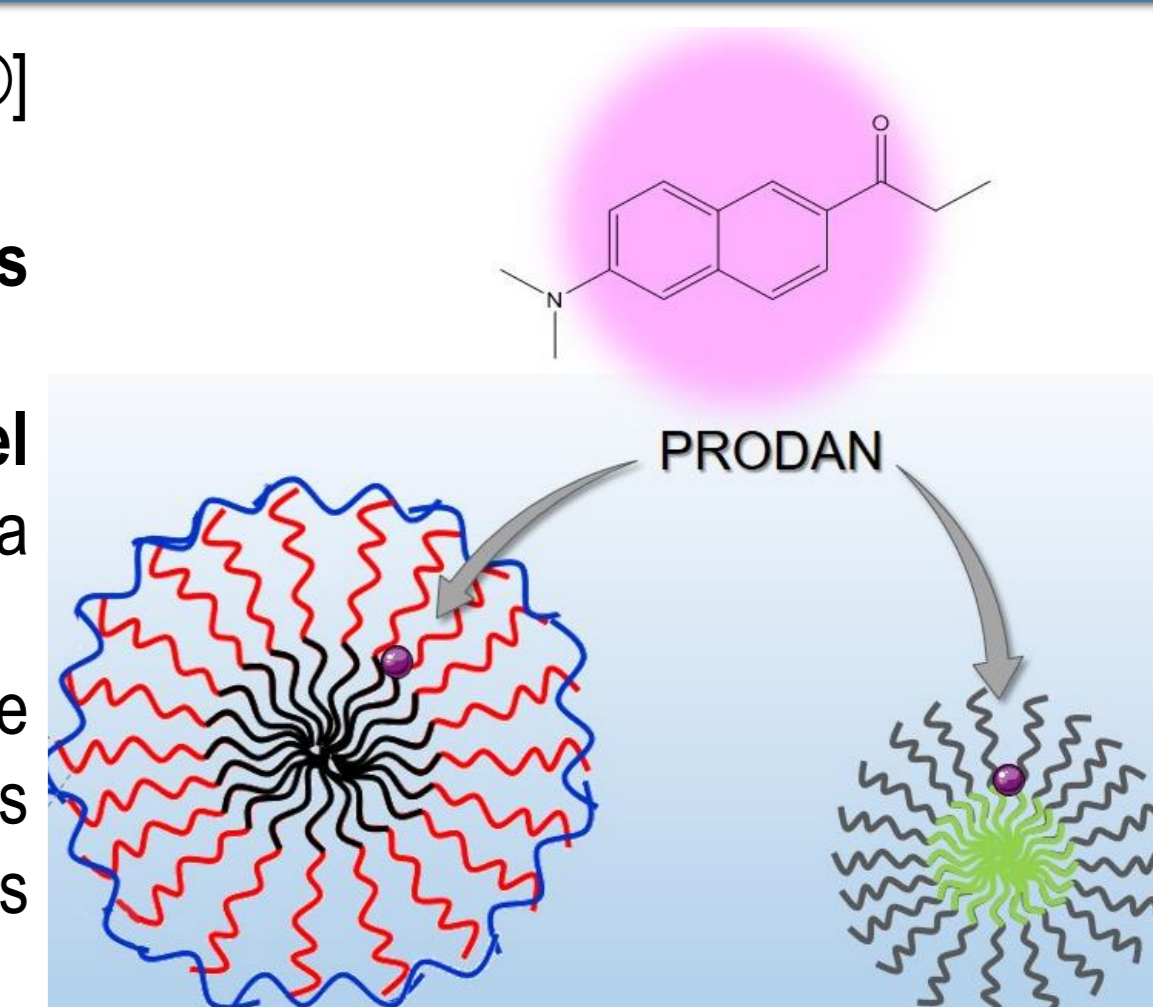
$E_T(30)$ (kcal/mol)			
MP de TPGS	52.0		
MP de Soluplus®	49.0		
Solventes con valores de $E_T(30)$ similares			
Solventes	α^a	β^a	$E_T(30)^a$ (kcal/mol)
Isopentanol	0.84	0.86	49.0
Etanol	0.86	0.75	51.9
Alcohol alílico	0.84	0.90	52.1

^aInformación obtenida de Marcus y col.

- La micropolaridad de micelas de Soluplus® es menor a la de TPGS.
- De acuerdo a las propiedades de los solventes con $E_T(30)$ similares, se puede estimar que PRODAN se ubica en la interfaz "Corazón-corona" de las micelas poliméricas

CONCLUSIONES

- PRODAN se incorpora completamente a [TPGS] > 9.9×10^{-4} M y [Soluplus®] > 2.1×10^{-5} M
- Se demostró que las micelas de Soluplus® son más fluidas y menos polares.
- La mayor polaridad censada en micelas TPGS es indicativo de mayor nivel de hidratación, lo que también concuerda con la mayor rigidez censada dentro de estas micelas.
- El hecho que PRODAN cense un ambiente mucho menos polar en micelas de Soluplus® concuerda con reportes bibliográficos que establecen que las micelas de Soluplus® exhibieron mayor capacidad de carga de fármacos hidrofóbicos que las micelas de TPGS.



AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la financiación provista por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Universidad Nacional de Río Cuarto, Agencia Nacional de Promoción Científica Tecnológica (FonCyT). MSO agradece a CONICET por su beca posdoctoral.