

Estudio de la síntesis de nanopartículas de fructanas y caracterización del conjugado NpL-ICG

Maura Jennifer Martínez Morales¹, Clarita Olvera Carranza¹, Leonor Pérez Martínez¹, Guadalupe Trinidad Zavala Padilla¹, Raymundo David Valdez Echeverría², Francisco M. Goycoolea³ ¹Instituto de Biotecnología, Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, UNAM, Cuernavaca, 62210, ²Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Departamento de Laboratorio Central, CDMX, 14080, ³University of Leeds, School of Food Science and Nutrition, Leeds, LS2 9JT maura.martinez@ibt.unam.mx

Palabras clave: fructanas, nanopartículas, encapsulación

Introducción. Las fructanas son biopolímeros compuestos por unidades de fructosa y se clasifican en levanas cuando presentan enlaces β(2-6) y en inulinas cuando su enlace es β(2,1) (1). Estos polímeros son ampliamente utilizados en la industria farmacéutica y cosmética como adyuvantes, antioxidantes y antiinflamatorios (2). En los últimos años se ha reportado que las fructanas de alto peso molecular (PAPM) se nanoestructuran y forman nanopartículas (Np) biodegradables y biocompatibles (3). Por lo tanto, se ha propuesto su uso como sistemas de liberación y entrega de fármacos (4). Así, el objetivo de este trabajo fue estudiar la producción de Np de levana (NpL) y caracterizar el conjugado NpL-ICG sintetizado enzimáticamente.

Metodología. La optimización del proceso de síntesis de NpL (OPSNpL) se realizó variando la concentración de sacarosa, enzima y analizando 2 tiempos. La caracterización de la morfología de las NpL y NpL-ICG se determinó por TEM y la caracterización fisicoquímica se evaluó por DLS. La encapsulación del verde de indocianina (ICG) (1 mg/ml) se realizó durante la síntesis enzimática y se determinó su liberación en condiciones fisiológicas por absorbancia a 780 nm.

Resultados. Analizamos 2 versiones truncadas de la levansacarasa LevS y se encontró que prolongando el tiempo y aumentando la concentración de sustrato y enzima hay un incremento en la cantidad de PAPM, sin embargo, la distribución de tamaños de las Nps se mantiene constante. De esta manera determinamos que la OPSNp corresponde a las condiciones marcadas en rojo en la Fig. 1.

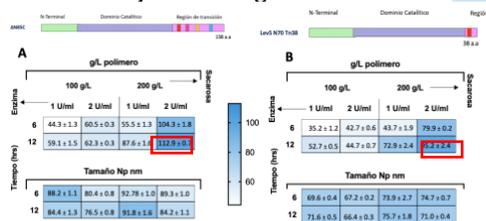


Fig. 1. Efecto de las condiciones de reacción en la síntesis de polímero y tamaño de nanopartícula de A) LevS ΔN85C y B) LevS N70 Tn38. Condiciones de reacción a 30°C, 300 rpm.

Por otro lado, se analizó la morfología de las NpL a las condiciones de síntesis optimizadas (Fig. 2) y encontramos que presentan una morfología esférica.

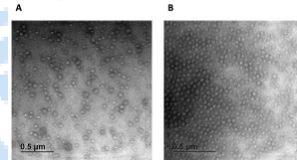


Fig. 2. Micrografías de nanopartículas de fructanas sintetizadas por reacción enzimática. A) LevS ΔN85C, B) LevS N70 Tn38. Posteriormente, se compararon las características de las Nps de fructanas y se seleccionó el sistema que presentaba un menor tamaño, PDI y mayor solubilidad para la síntesis del conjugado NpL-ICG, además, se consideró que LevS N70 Tn38 presenta la mayor eficiencia catalítica 27.6 mM⁻¹S⁻¹.

Tabla 1. Propiedades de las Np de levana e inulina (4).

Np del biocatalizador	Tamaño Np nm	Potencial Z mV	PDI	Solubilidad g/L	Número de Np/ml	Referencia
hIAA	112 ± 5*	-0.55 ± 0.02	0.03	107.5 ± 6.11*	2.83 ± 0.2 × 10 ¹¹ *	Hernández-Rodríguez, 2021
SacB H243L	111.9 ± 0.70	-3.46 ± 0.78	0.04	29.11 ± 1.35	ND	Gullien-Tinoco, 2022
LevS ΔN85C	89.35 ± 1.08	-1.33 ± 0.17	0.086	111.3 ± 0.49	3.80 ± 0.21 × 10 ¹³	Presente trabajo*
LevS N70 Tn38	71.02 ± 0.44	-1.78 ± 0.22	0.04	128.13 ± 0.48	2.71 ± 0.36 × 10 ¹³	Presente trabajo*

El conjugado NpL-ICG presentó una capacidad de carga de 3.20 μg ICG/ mg de NpL, sus características fisicoquímicas fueron: 64 nm, PDI 0.02 y -1.44 mV. Respecto a la liberación de ICG, se encontró que el 90% de colorante se liberó en las primeras 6 horas.

Conclusiones. Demostramos que las NpL son capaces de encapsular y liberar ICG, de esta manera las NpL autoensambladas podrían ser utilizadas como sistema de liberación de fármacos.

Agradecimiento. El proyecto fue financiado por la UNAM mediante el programa DGAPA-PAPIIT proyecto IN216120, además del apoyo económico otorgado por el CONACyT a través de la beca No. 1146371 (CVU).

Bibliografía.

- French, A. D. (1988). Carbohydrate Research, 176(1), 17–29.
- Öner, E., Hernández, L. & Combie, J. (2016). Biotechnology Advances, 34(5): 827-844.
- Sezer, A., Kazak, S., Rayaman, E., Çevikbaş, A., Öner, E. & Akbuğa, J. (2017). Pharmaceutical Development and Technology, 22(5): 627–634.
- Jiménez-Sánchez, M., Pérez-Morales, R., Goycoolea, F., Mueller, M., Praznik, W., Loeppert, R., Bermúdez-Morales, V., Zavala-Padilla, G., Ayala, M. & Olvera, C. (2019). Carbohydrate Polymers, 215: 160-169.