

“Proceso novedoso para la síntesis de un lípido anfipático catiónico”

MX/a/2023/006579

Descripción de la Tecnología

La invención presenta un nuevo proceso de síntesis para la obtención de un lípido catiónico el cual es espermidin-colesterol. La invención tiene aplicación en el área farmacéutica, proporcionando un proceso que podría tener mayor rendimiento y una mayor eficiencia de transfección celular para que sea utilizado como materia prima en la producción de liposomas y otros sistemas farmacéuticos. El proceso se refiere a la síntesis un lípido catiónico de espermidin-colesterol (lípido B) mediante un proceso mejorado (respecto a un lípido A), para que posteriormente mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés) de fase reversa, sea separado y caracterizado, y se pueda determinar que cumpla con los parámetros de eficiencia, eficacia y seguridad. También mediante la técnica de citometría de flujo se podrá observar la estimulación que se lleva a cabo con las vesículas.

El proceso comprende los pasos de: a. Disolver por completo espermidina con cloroformo en un matraz bola de 50 mL; b. Disolver colestirilcloroformiato con cloroformo; c. Colocar el matraz bola en un baño de hielo y adicionar la solución de colestirilcloroformiato gota a gota con agitación constante y vigorosa; d. Mantener la reacción durante 3 a 4 horas; e. Añadir una solución de hidróxido de sodio 0.1M y; f. Dejar en agitación durante una hora; g. Recuperar la fase orgánica y realizar lavados para obtener un producto blanco o blanco amarillento; h. Realizar una prueba de cromatografía en capa fina en sistemas de elución diseñadas con mezclas de cloroformo-metanol-ácido acético y agua; i. Realizar el revelado, se realiza asperjando una solución alcohólica de ninhidrina y se colocan en la estufa a una temperatura de 80-100°C durante 10 minutos.

Aplicaciones, usos y beneficios de la tecnología

El lípido catiónico que pueda resultar de este nuevo proceso de síntesis, podría ser utilizado para la producción de liposomas, los cuales son capaces de transportar fármacos y tienen buena biocompatibilidad, biodegradación e inmunogenicidad. Los lípidos catiónicos pueden mejorar la cinética de absorción de los ácidos nucleicos, las preparaciones comerciales están comúnmente limitadas por la citotoxicidad que ocasionan los lípidos catiónicos al tener las concentraciones necesarias para su correcta absorción. A diferencia de estos, el espermidin-colesterol ha demostrado no ser citotóxico.

El cuerpo de investigación a cargo de esta solicitud de patente, ha comparado el rendimiento y biocompatibilidad de dos procesos de síntesis, dando como resultado un lípido A ya patentado (MX 330174) y un lípido B (la presente solicitud). Para demostrar las mejoras de utilizar este nuevo proceso, se realizaron las siguientes pruebas: 1) Pruebas de solubilidad del espermidin-colesterol lípido A y B, 2) Proporciones de butanol con fase móvil, utilizadas para probar la miscibilidad del butanol en el HPLC, 3) Disoluciones de butanol/isopropanol a diferentes proporciones utilizadas para probar su miscibilidad y la solubilidad del espermidin-colesterol en cada una de ellas, 4) Disoluciones de butanol/diclorometano a diferentes proporciones utilizadas para probar su miscibilidad y la solubilidad del espermidin-colesterol en cada una de ellas, 5) Proporciones de butanol/DCM/fase móvil preparadas para probar su miscibilidad y la solubilidad del espermidin-colesterol en cada una de ellas, 6) Comparación de los espectros UV, cálculo de porcentaje y resolución de los picos de espermidin-colesterol presentes en los cromatogramas de los lípidos disueltos en butOH/DCM/Fase Móvil, 7) Síntesis de Lípido Catiónico Espermidin-colesterol Síntesis A y B, y 8) Citometría de flujo.

Los liposomas fabricados con el espermidil-colesterol sintetizado mediante la síntesis B, fueron utilizados para realizar otros ensayos como cierre de herida y capacidad clonogénica, utilizando la línea celular HCT116, se observó que el lípido catiónico no interfiere en la capacidad de migración ni de crecimiento celular; los liposomas fabricados muestran seguridad y eficacia como sistema de administración para tratamientos futuros (Vera, 2023).

Con este nuevo método de síntesis de productos de espermidina-colesterol en su forma neutra se puede obtener un rendimiento significativamente mayor del 36-70% medido comparando el peso total de los reactivos en miligramos con los de espermidina-colesterol. El nuevo método que se propone tiene menos impurezas respecto a la síntesis A, mejor comportamiento biológico y mayor rendimiento de reacción.

Las principales ventajas de la síntesis B se plantean a continuación:

- La reacción para obtener el lípido B es más eficiente: rendimiento promedio del 91.26% frente a 66.98% del lípido A.
- El comportamiento es estable y seguro al interactuar con las células.
- Utiliza una menor cantidad de solventes para su producción.
- No genera una gran cantidad de residuos como el método A: El producto de la síntesis A contiene trazas de espermidina. En el producto de la síntesis B no se observan trazas de espermidina.

Nivel de madurez de la tecnología



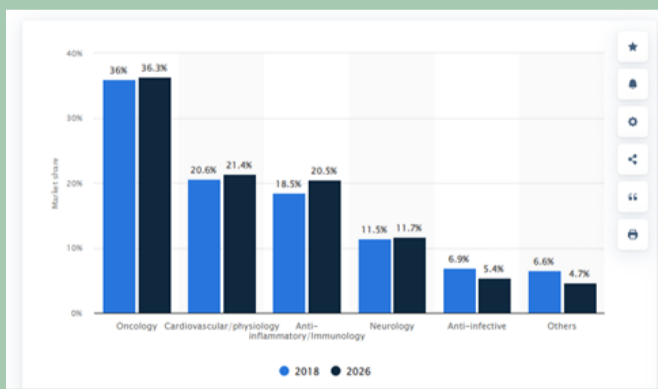
De acuerdo con la escala de la NASA y del estándar internacional ISO/FDIS 16290:2013 “Space Systems – Definition of the Technology Readiness Levels (TRLs) and their criteria of assessment” se estima que esta invención tiene un TRL de 3 que corresponde a la Prueba experimental en laboratorio, siendo una primera prueba de concepto. Este nivel de maduración tecnológica se caracteriza porque se han realizado pruebas de función o característica del elemento mediante análisis, modelación y simulación, y mediante experimentación. En el nivel TRL 3, los requisitos de rendimiento de los elementos son generales, están ampliamente definidos y pueden ser preliminares. Son coherentes con cualquier concepto o aplicación formulados. Se establecen los requisitos de rendimiento funcional del elemento y se definen los objetivos en relación con el estado actual de la técnica.

Información de mercado



Los desarrollos tecnológicos en el campo de la farmacéutica han sido acelerados en las últimas décadas, desde 1980 han ido en aumento los productos farmacéuticos a base de nanoestructuras que, en la actualidad, incluyen nanocristales, liposomas y nanopartículas lipídicas, nanofármacos poliméricos pegilados, otros polímeros, nanopartículas basadas en proteínas y nanopartículas basadas en metales. Uno de los impulsores para el desarrollo de la nanomedicina ha sido su potencial uso como agentes terapéuticos por sí mismos y su capacidad para actuar como vehículos para transportar diferentes agentes activos a partes específicas del cuerpo (Farjadian, et al., 2019).

El mercado de medicamentos nanofarmacéuticos se distribuye entre: oncológicos, cardiovasculares /fisiológica, antiinflamatorio/Inmunología, neurología, antiinfeccioso, y otros. Como se observa en la siguiente figura 1, en 2018 el mercado mundial total ascendió a unos 42 mil millones de dólares, de los cuales alrededor del 36 por ciento se generó en el área de la oncología (Statista, 2023.)



Por otra parte, los liposomas han demostrado ser eficientes para su uso en medicamentos o tratamientos contra el cáncer (Tabla 1), de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, el cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo (OMS, 2022) siendo los más comunes, el cáncer de mama, pulmón, colon y próstata. Se proyecta que la inversión global en el tratamiento y prevención oncológica incrementará en un 73% en los próximos cinco años (Statista, 2023). Dado que la prevalencia del cáncer a nivel mundial irá en aumento, el desarrollo de nanofármacos que ayuden a un mejor tratamiento será indispensable.

Tipo	Aplicaciones
Liposomas	Entrega de diversas biomoléculas como: enzimas, hormonas, oligonucleóticos, antisentido, ribozimas, proteínas/péptidos, ADN y medicamentos contra el cáncer.
Nanocristales	Tratamiento del cáncer, Control del nivel de triglicéridos y colesterol, Quimioterapia hipertérmica
Nanopartículas poliméricas	Entrega de fármacos, Entrega de genes, Ingeniería de tejidos
Nanopartículas magnéticas	Nanopartículas magnéticas Funcionalización de superficies en agua, como paclitaxel, SN-38, doxorubicina, ceramida C6
Micelas	Llevar varios medicamentos insolubles en agua, incluidos: paclitaxel, SN-38, doxorubicina, ceramida C6
Dendrímeros	Llevar varios medicamentos entre ellos: piroxicam, paclitaxel, ketoprofeno, metotrexato
Nanopartículas de sílice mesoporosa	Apoyo al crecimiento de células óseas, terapia quimiofototérmica, administración de vacunas, tratamiento de cáncer, terapia de glioma cerebral
Nanotubos de carbón	Administración de fármacos y genes, biodetección, administración de objetos específicos, agente de diagnóstico, agentes antidoto
AuNP	Administración de medicamentos, Diagnóstico, Tratamiento de diversas enfermedades que incluyen: cáncer, Alzheimer, diabetes, artritis, insuficiencia cardíaca.
QD	Detección biológica, orientación celular e intracelular