

## Estudios de incorporación de protoporfirina IX a liposomas

Hermida, L.<sup>(i)</sup>; Lagomarsino, A.<sup>(i)</sup>; Enríquez, G.<sup>(ii)</sup>; Barnadas Rodríguez, R.<sup>(iii)</sup>; Sabés Xamaní, M.<sup>(iii)</sup>.

<sup>(i)</sup> Centro de Investigación y Desarrollo en Química y Petroquímica (CEQUIPE).

<sup>(ii)</sup> Tecno-Megnyer S. A.

<sup>(iii)</sup> Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Barcelona, España.

### INTRODUCCIÓN

En los últimos treinta años los liposomas han pasado de ser un modelo experimental para el estudio de membranas biológicas a ser una herramienta poderosa para la industria, en particular como sistemas de liberación controlada de fármacos.

Un ejemplo de sus aplicaciones es la terapia fotodinámica (PDT), muy difundida para el tratamiento de distintos tipos de cáncer, psoriasis, aterosclerosis y enfermedades de la mácula<sup>(1)</sup>. En la PDT se emplean sustancias conocidas como fotosensibilizantes que generan reacciones de radicales libres al ser irradiadas por luz de una longitud de onda apropiada, produciendo la necrosis del tejido. Entre ellas se encuentran las porfirinas y sus derivados. Para optimizar la distribución tisular del fotosensibilizante se lo suele incorporar en liposomas, existiendo en la actualidad productos para PDT aprobados por la FDA<sup>(2,3,4)</sup>.

### OBJETIVO

El objetivo del presente trabajo consistió en desarrollar una formulación de una porfirina liposomada empleándose como modelo experimental la protoporfirina IX (ver Fig.1), un fotosensibilizante de acción conocida.

### Materiales y métodos

La metodología empleada fue la siguiente:

- Purificación de fosfatidilcolina a partir de yema de huevo (EPC) y caracterización química<sup>(5)</sup>.
- Desarrollo de método rápido para la determinación espectrofotométrica de PIX.
- Preparación de vesículas multilamelares (MLVs) conteniendo distintas concentraciones

relativas de PIX y EPC, empleando la EPC purificada anteriormente.

- Extrusión de las MLVs por membranas de policarbonato hasta 200 nm.
- Caracterización fisicoquímica de los liposomas obtenidos: cuantificación de PIX y EPC - determinación del tamaño de partícula mediante espectrometría de dispersión de luz - observación al microscopio electrónico.

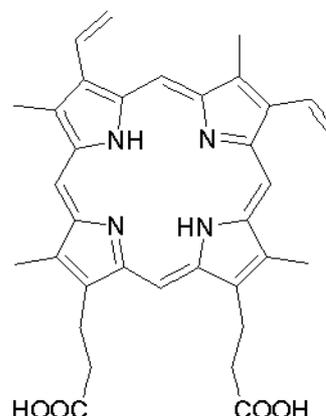


Fig. 1: Estructura química de la protoporfirina IX

- Separación liposomas – sustancia libre: determinación del % de incorporación y rendimiento para cada concentración..
- Liofilización de los liposomas obtenidos.
- Evaluación del producto liofilizado y reconstituido en agua.

## RESULTADOS

1. Se obtuvieron curvas de saturación de liposomas a dos concentraciones de PIX (50 y 130 ppm) que permitieron optimizar la relación PIX a EPC (ver Fig.2).

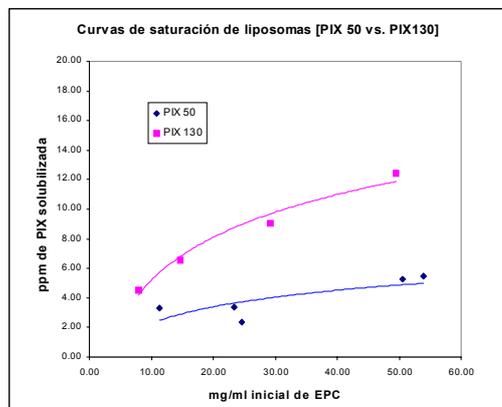


Fig.2: curvas de saturación de liposomas a dos concentraciones de PIX.

2. Para una concentración de PIX de 0,05 mg/ml y de EPC de 50 mg/ml se obtuvo una incorporación de PIX de **más del 90%**, evaluada mediante la separación entre sustancia liposomada y sustancia libre. Se adjuntan gráficos de barras correspondientes al % elución de PC y PIX en cada fracción para la muestra original y para la muestra liofilizada y reconstituída (ver Fig.3 y 4).
3. La liofilización y reconstitución de estos liposomas no alteraron sus características fisicoquímicas evidenciando su estabilidad frente al proceso, lo cual resulta clave para la obtención de un producto comercializable.

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos para la PIX podrán ser transferidos a otras sustancias de la familia de las porfirinas que posean las características deseables para los fotosensibilizantes de última generación: alta selectividad hacia el tejido tumoral, baja toxicidad para las células normales y fuerte absorción de la luz por encima de los 600 nm, asegurando una mayor penetración tisular.

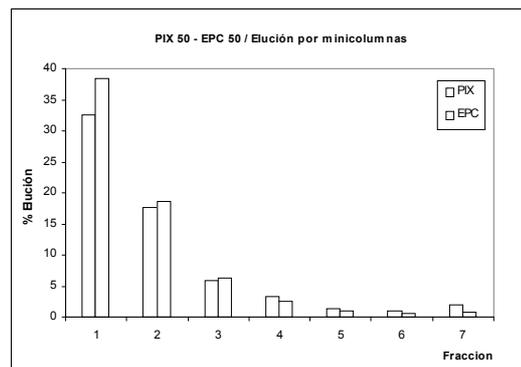


Fig.3: perfil de elución por minicolumnas de exclusión molecular de una muestra conteniendo 50 ppm de PIX + 50 mg/ml EPC.

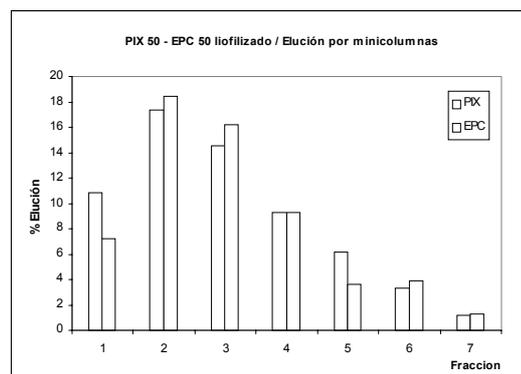


Fig.4: perfil de elución por minicolumnas de exclusión molecular de una muestra conteniendo 50 ppm de PIX + 50 mg/ml EPC liofilizada y reconstituída.

## Referencias

- [1] Dougherty, T. "Photodynamic therapy (PDT) of malignant tumors". Crit. Rev. Oncol. Hematol., 2:83-116 (1984).
- [2] US Patent 5,389,378 (1995).
- [3] US Patent 6,074,666 (2000).
- [4] US Patent 6,093,739 (2000).
- [5] Levene P.A, Rolf I.P. "Structure and significance of the phosphatides". Physiological Reviews, 1(3): 327-393.

Para mayor información contactarse con:

Laura Hermida – [lhermida@inti.gov.ar](mailto:lhermida@inti.gov.ar)

[Volver a página principal](#) ◀