

Nucleolípido incorporado en liposomas funcionalizados con nanopartículas de oro y sensibles a estímulos de pH y temperatura para liberación controlada de doxorubicina

García Mónica C.*^{1,2,3}, Calderón Montaña José Manuel⁴, Rueda Manuela⁵, Longhi Marcela^{1,2}, Rabasco Antonio María³, López Lázaro Miguel⁴, Prieto Dapena Francisco⁵, González Rodríguez María Luisa³

¹ Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Ciudad Universitaria, Haya de la Torre y Medina Allende, Ed. Cs. II, X5000HUA Córdoba, Argentina.

² Unidad de Investigación y Desarrollo en Tecnología Farmacéutica, CONICET, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, UNITEFA, X5000HUA Córdoba, Argentina

³ Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. C/ Prof. García González 2, 41012 Sevilla, España.

⁴ Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. C/ Prof. García González 2, 41012 Sevilla, España.

⁵ Departamento de Química-Física, Facultad de Química, Universidad de Sevilla. C/ Prof. García González s/n, 41012 Sevilla, España.

*Correspondencia: mgarcia@unc.edu.ar , malugoro@us.es

1. Introducción

Los liposomas (Lip), fueron el primer tipo de sistema de liberación de fármacos de base nanotecnológica, reportado en los años 70. Desde entonces, han sido ampliamente estudiados y se consideran una de las herramientas más útiles para desarrollar nanosistemas orientados al transporte y liberación de fármacos [1]. Además, los Lip pueden ser funcionalizados con nanopartículas de oro (AuNPs), de utilidad en el diagnóstico y tratamiento del cáncer.

El gradiente de pH existente entre los tejidos y fluidos normales en comparación con los tejidos tumorales, sumado al metabolismo rápido que presentan las células tumorales, el cual genera hipertermia, ha motivado, en los últimos años, el desarrollo de Lip con capacidad de responder a cambios de pH o temperatura como nanosistemas portadores de fármacos anticancerígenos [2].

Recientemente, los nucleolípidos se han

estudiado como materiales constituyentes de los Lip. Las estructuras supramoleculares que incorporan nucleolípidos presentan capacidades de reconocimiento molecular hacia la base complementaria del ADN, lo que las hace útiles como nanosistemas para el transporte y liberación de fármacos, particularmente contra el cáncer [3].

En este trabajo presentamos, por primera vez, la incorporación del nucleolípido (1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-(citidina difosfato)) (DP-CDP) en Lip constituidos por dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y colesterol, los cuales fueron, posteriormente, decorados con AuNPs PEGiladas y cargados con doxorubicina (Dox), con vistas a su aplicación en la nanomedicina del cáncer.

2. Materiales y métodos

Previo al desarrollo de los Lip, se analizaron termodinámicamente las isoterms de Langmuir

en monocapas lipídicas mixtas con el fin de determinar la composición óptima de DPPC y DG-CDP, y la proporción de colesterol a utilizar.

2.1. Obtención de los AuNPs-Lip-Dox

Los Lip fueron obtenidos mediante rehidratación del film lipídico. Se utilizaron cantidades predeterminadas de DPPC, DG-CDP y colesterol en proporción 94:3:3 mol %. La encapsulación de Dox se realizó mediante carga remota por gradiente de pH transmembrana utilizando $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Los Lip y Lip-Dox se funcionalizaron con AuNPs PEGiladas cargadas positivamente.

2.2. Caracterización de los AuNPs-Lip-Dox

Se evaluó el diámetro hidrodinámico (Dh), índice de polidispersión (PDI), potencial electrocinético (Z), eficiencia de encapsulación (EE%), morfología por FE-SEM, liberación de Dox en celdas de Franz (medios receptores: solución tampón de fosfatos pH 7,4 y acetato pH 5, simulando condiciones fisiológicas y microambiente tumoral, respectivamente) a 37 °C y 42 °C, temperaturas fisiológicas y de hipertermia, respectivamente). Se analizaron las cinéticas y mecanismos de liberación. Se evaluó la actividad biológica antitumoral frente a células de cáncer de mama y ovario (MDA-MB-231 y SK-OV-3, respectivamente).

3. Resultados y Discusión

Los Lip presentaron Dh entre 400 y 650 nm con PDI aceptables ($\leq 0,35$). El anclaje de las AuNPs o la incorporación de la Dox incrementaron el Dh comparado con los Lip blanco, lo que se corresponde con un aumento de la complejidad del sistema [4]. El anclaje de las AuNPs PEGiladas se hizo por complejación debido al Z negativo conferido por los grupos fosfato del DG-CDP. Los Lip blanco y cargados con Dox, antes y después de la funcionalización con las AuNPs, presentaron Z negativos (-23 - -6,6 mV). Sin embargo, el anclaje de las AuNPs produjo un aumento en el Z de ambas muestras.

Referencias bibliográficas

1. Large DE, Abdelmessih RG, Fink E, Auguste DT. Liposome composition in drug delivery design, synthesis, characterization, and clinical application. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2021:113851.

Lip-Dox presentó una mayor encapsulación de Dox (EE=82 %) comparado con AuNPs-Lip-Dox (EE=78 %), lo que se explica por la desestabilización que pueden inducir las AuNPs en la bicapa de los Lip, facilitando la pérdida de parte de la Dox encapsulada [5].

El análisis mediante FE-SEM mostró que los Lip presentaron forma aproximadamente esférica, en la escala nanométrica, con tamaños comparables a los observados mediante espectroscopía de correlación fotónica.

Los Lip con y sin funcionalización con AuNPs modularon la liberación de Dox en todos los medios evaluados, siendo la difusión del fármaco el principal mecanismo de liberación. En el medio ácido y en condiciones de hipertermia se produjo una activación de la liberación, demostrando la capacidad de los sistemas liposomales para responder a ambos estímulos. La sensibilidad frente a estos estímulos fue más marcada en el sistema AuNPs-Lip-Dox.

La Dox encapsulada en los Lip preservó su actividad antiproliferativa contra las células tumorales evaluadas, presentando una eficacia comparable a la exhibida por Dox pura.

4. Conclusiones

Los Lip desarrollados incorporaron adecuadamente el nucleolípido y la Dox, exhibieron respuesta frente a ambos estímulos (pH y temperatura) y presentaron propiedades prometedoras para ser utilizados en la nanomedicina del cáncer.

Agradecimientos

El trabajo fue financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación de España (CTQ2014-57515-C2-1), la Junta de Andalucía (FQM202 y CTS214), CITIUS y el VI Plan Propio de la Universidad de Sevilla. García MC agradece a la beca AUIP por la beca concedida, y a la UNC y CONICET, Argentina.

2. Franco MS, Gomes ER, Roque MC, Oliveira MC. Triggered Drug Release From Liposomes: Exploiting the Outer and Inner Tumor Environment. *Frontiers in Oncology*. 2021;11:470.
3. Barthélemy P. Nucleoside-based lipids at work: From supramolecular assemblies to biological applications. *Comptes Rendus Chimie*. 2009;12(1-2):171-179.
4. Abraham SA, Waterhouse DN, Mayer LD, Cullis PR, Madden TD, Bally MB. The liposomal formulation of doxorubicin. *Methods in enzymology*. Vol 391. Elsevier; 2005. p. 71-97.
5. Ghosh P, Han G, De M, Kim CK, Rotello VM. Gold nanoparticles in delivery applications. *Advanced Drug*

Este trabajo debe ser citado como:

García MC, Calderón Montaña JM, Rueda M, Longhi M, Rabasco AM, López Lázaro M, Prieto Dapena F, González Rodríguez ML. Nucleolípido incorporado en liposomas funcionalizados con nanopartículas de oro y sensibles a estímulos de pH y temperatura para liberación controlada de doxorubicina. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):177-9.