

# ESTUDIOS DE INCORPORACIÓN DE PROTOPORFIRINA IX A LIPOSOMAS

LAURA G. HERMIDA<sup>(1)</sup>, ALICIA S. LABOMARSINO<sup>(1)</sup>, GRACIELA ENRÍQUEZ<sup>(2)</sup>, RAMÓN BARNADAS RODRÍGUEZ<sup>(3)</sup>, MANUEL SABÉS XAMANI<sup>(3)</sup>

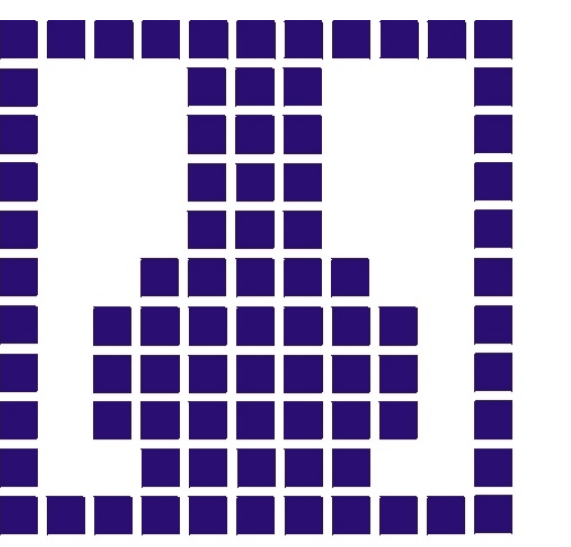
<sup>(1)</sup> CEQUIPE - Centro de Investigación y Desarrollo en Química y Petroquímica.

INTI- Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI).

<sup>(2)</sup> Tecno-Megnyer S.A.

<sup>(3)</sup> Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Barcelona.

lhermida@inti.gov.ar . Tel/Fax +(54) 11-4753-5749 / 4755-6104



INTI

CEQUIPE

## 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. 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 a liposomas, existiendo en la actualidad productos para PDT aprobados por la FDA.

## OBJETIVO

El objetivo del presente trabajo consistió en desarrollar una formulación de una porfirina liposomada empleándose como modelo experimental la protoporfirina IX (PIX, 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 .

Desarrollo de método rápido para la determinación espectrofotométrica de PIX.

Preparación de vesículas multilamelares conteniendo distintas concentraciones relativas de PIX y EPC, empleando la EPC purificada anteriormente.

Extrusión por membranas de policarbonato.

Caracterización fisicoquímica de los liposomas obtenidos: cuantificación de PIX y EPC - determinación del tamaño de partícula - observación al microscopio electrónico (Fig.5).

Separación liposomas - sustancia libre: cálculo del % de incorporación y rendimiento para cada concentración.

Liofilización de los liposomas obtenidos. Evaluación del producto liofilizado y reconstituido.

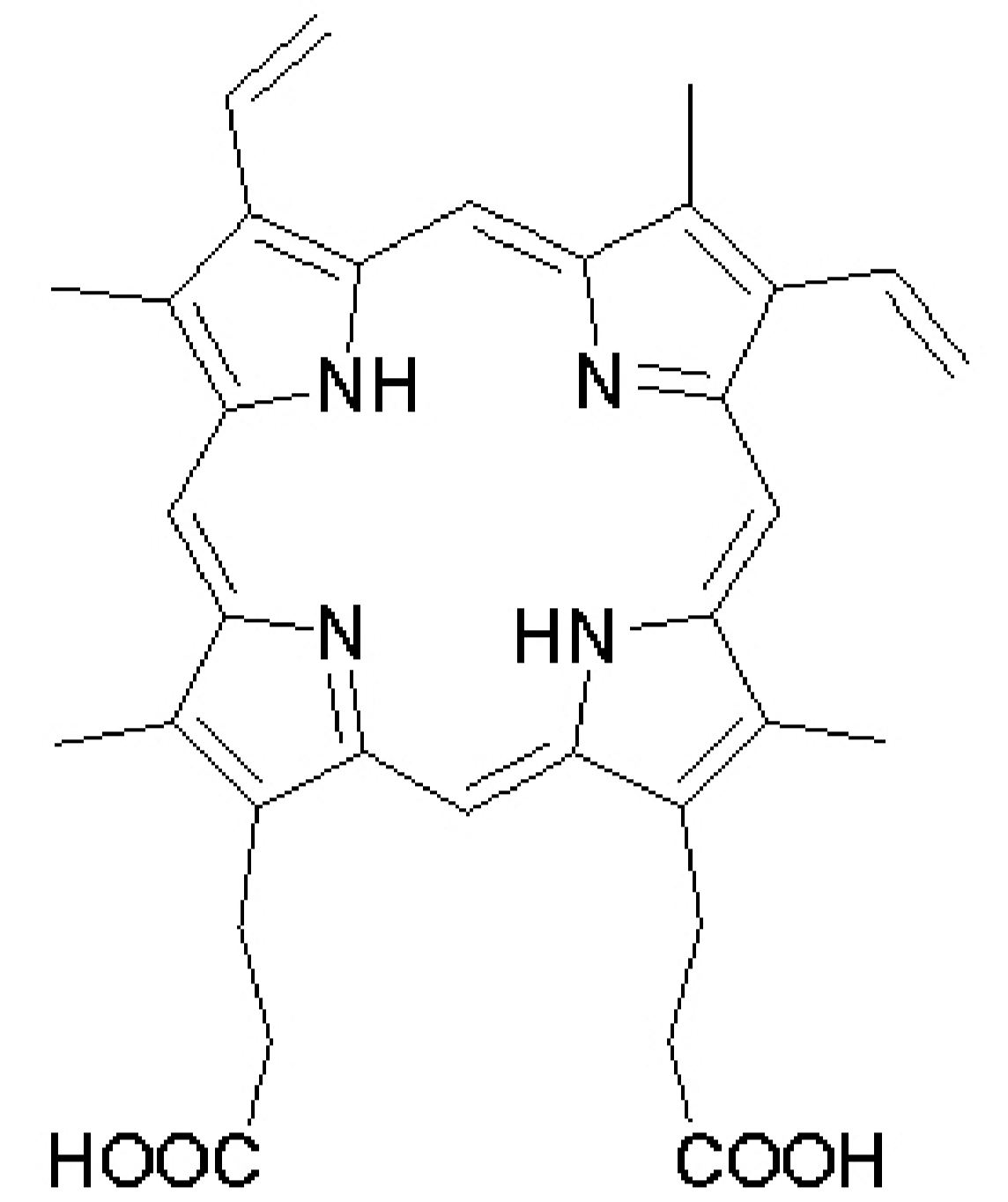


Figura 1: estructura de la protoporfirina IX

## RESULTADOS

Se obtuvieron curvas de saturación de liposomas a dos concentraciones de PIX (50 y 130 ppm) que permitieron optimizar la relación PIX a EPC (Fig.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. 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 (Figs.3 y 4).

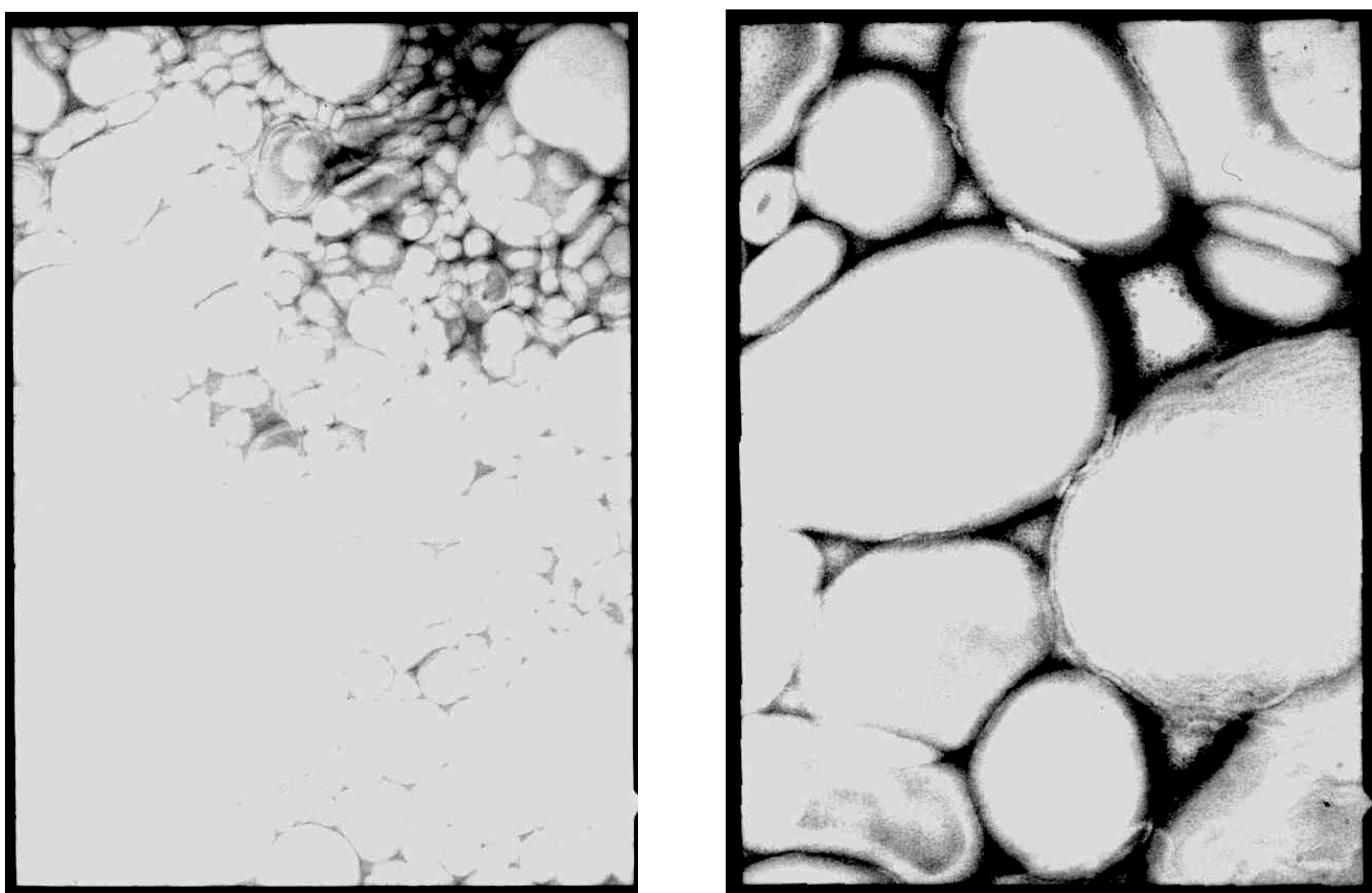


Figura 5 : vesículas multilamelares (MLVs) observadas con un microscopio electrónico de transmisión por el método de tinción negativa (corresponden a la muestra PIX50-EPC50).

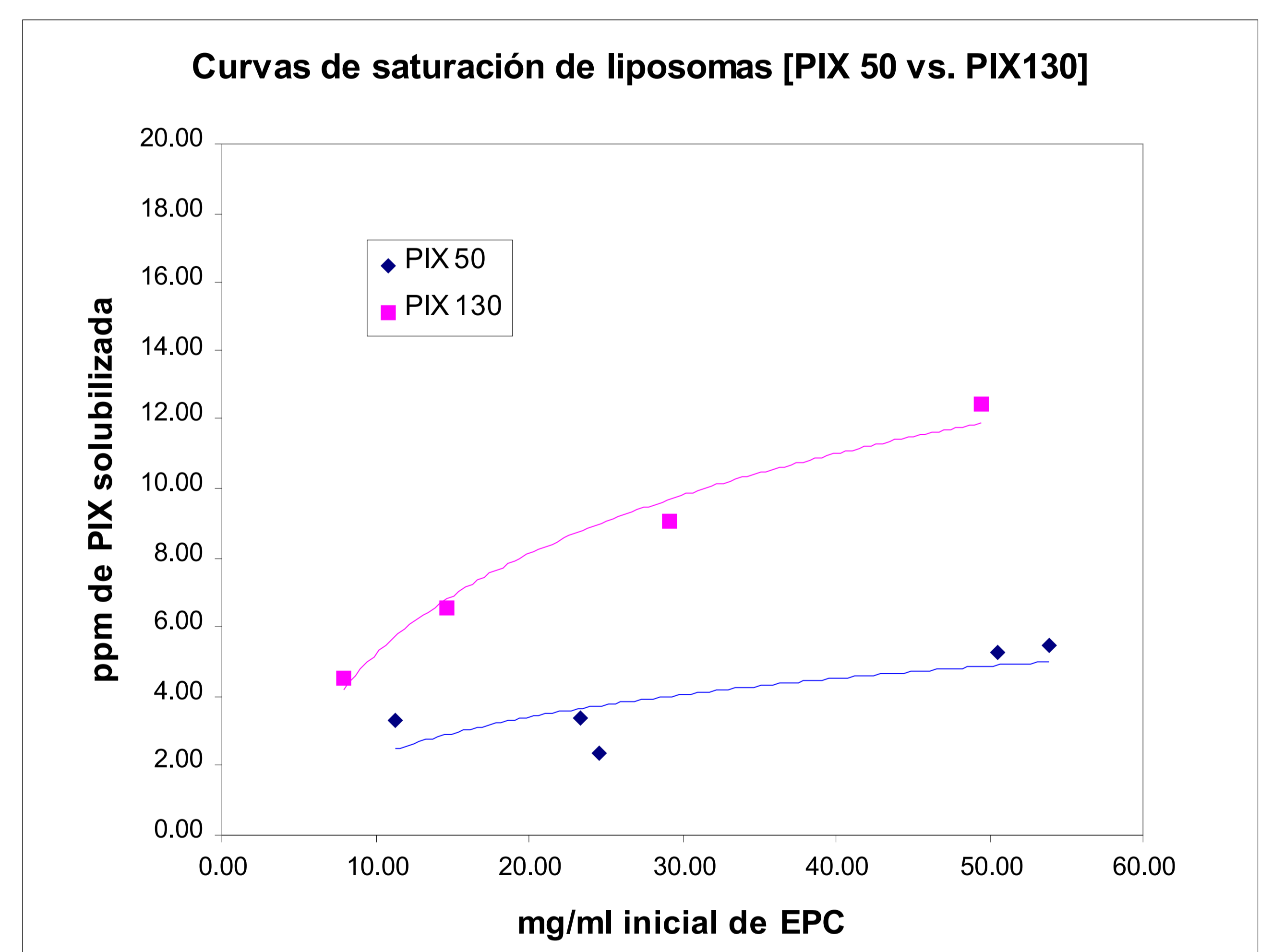


Figura 2: curvas de saturación de liposomas a dos concentraciones de PIX

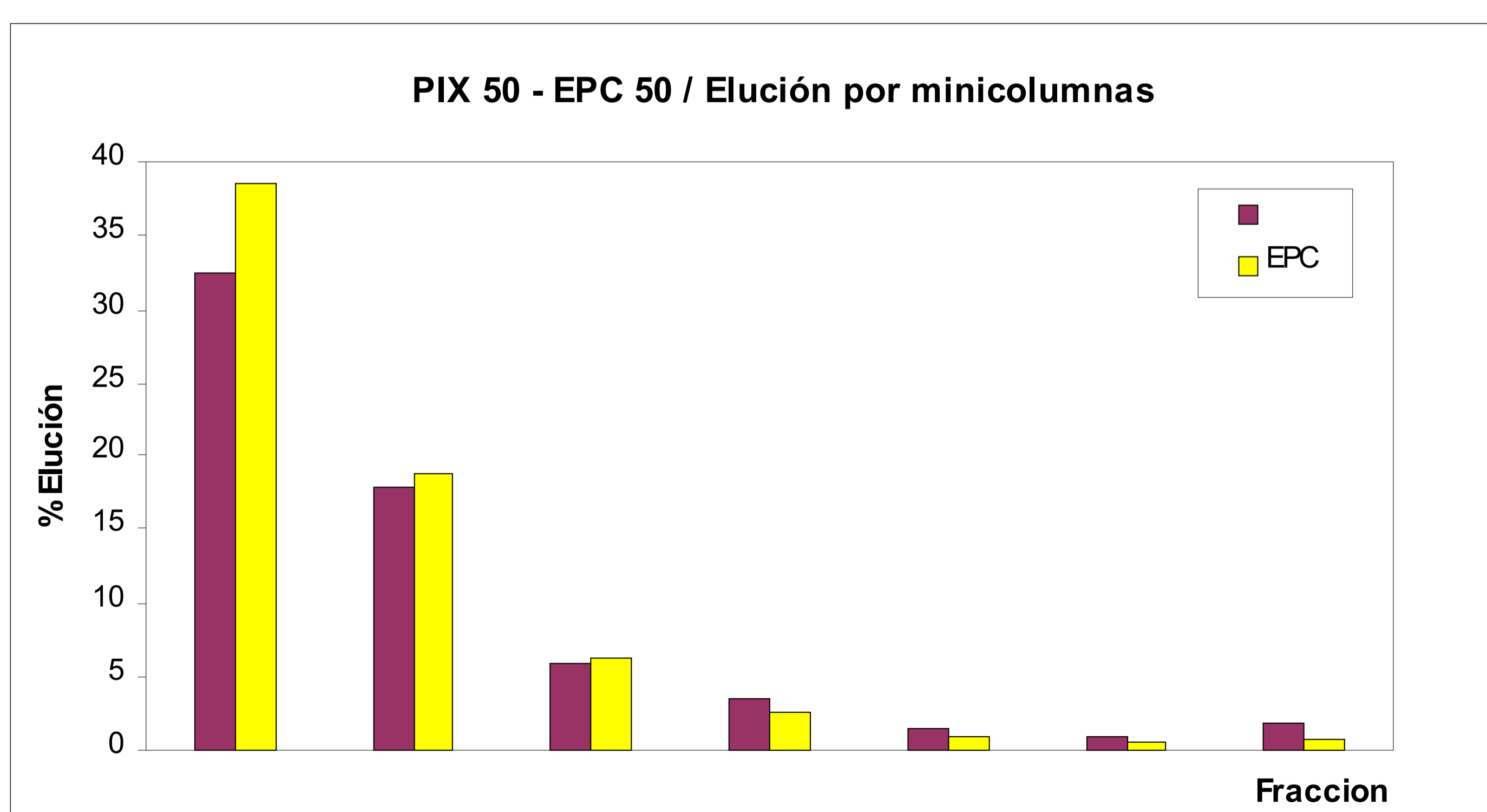


Figura 3 : perfil de elución por minicolumnas de exclusión molecular de una muestra conteniendo 50 ppm de PIX + 50 mg/ml EPC.

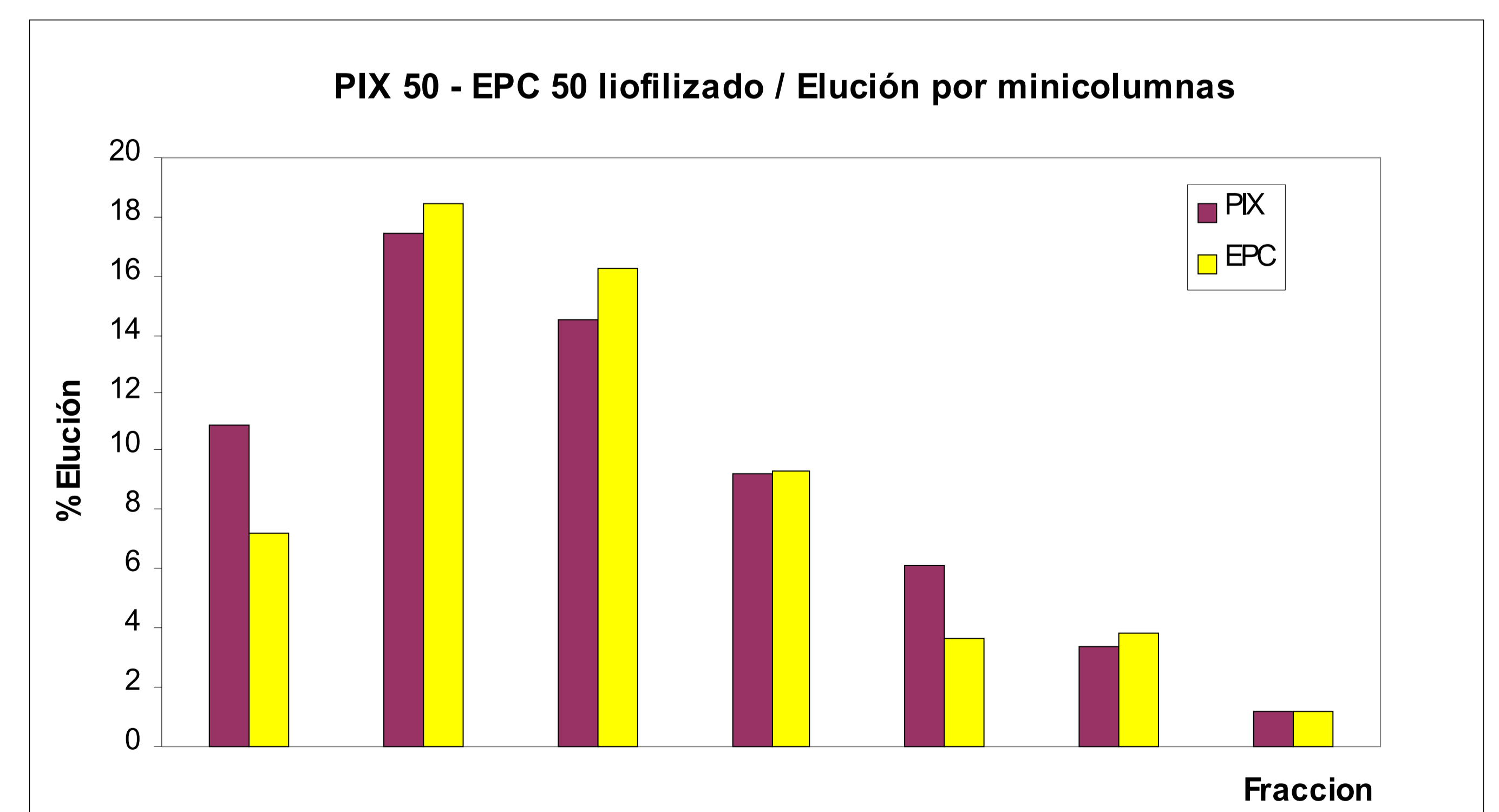


Figura 4 : perfil de elución por minicolumnas de exclusión molecular de una muestra conteniendo 50 ppm de PIX + 50 mg/ml EPC liofilizada y reconstituída.

## 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.