



División De Ciencias Biológicas y de la Salud
Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Determinación de la farmacocinética de doxorubicina encapsulada en nanopartículas sólido-lipídicas en ratas Wistar

Presentado por:

Caballero Pereda Daniela

2203060497

El periodo comprendido para la realización del proyecto es del 1/2/2024 al 31/1/2024.



Asesor interno
Dr. Pablo Eliasib Martínez Gopar
Número económico 45137



Asesora externa
Dra. Patricia López García
Cédula Profesional: 2391437

Determinación de la farmacocinética de doxorubicina encapsulada en nanopartículas sólido-lipídicas con ratas Wistar

1. Introducción

La doxorubicina es un fármaco antineoplásico de gran importancia utilizado en varios tipos de cáncer incluido el cáncer de mamá, sin embargo, presenta cardiotoxicidad y necrosis en la zona de administración. Por lo que en la actualidad se han desarrollado varios nanosistemas que encapsulan doxorubicina con la finalidad de mejorar su eficacia terapéutica y limitar efectos secundarios. Las nanopartículas sólido-lipídicas o SLN, por sus siglas en inglés *Solid Lipid Nanoparticles*, surgieron en 1991 con el objetivo de proporcionar biocompatibilidad, estabilidad en almacenamiento y para evitar la degradación del fármaco incorporado (Vijay *et. al.* 2018). En la presente investigación se evaluó la farmacocinética de la doxorubicina encapsulada en SLN en ratas Wistar con la finalidad de evaluar la biodisponibilidad de la doxorubicina encapsulada en dichas nanopartículas.

2. Objetivo general:

Evaluar la farmacocinética de la doxorubicina encapsulada en ratas Wistar.

→ Objetivos particulares

- Determinar la concentración plasmática de la doxorubicina encapsulada en nanopartículas sólido-lipídicas (SLN) administrada en ratas.
- Comparar la biodisponibilidad de la doxorubicina encapsulada en las SLN frente a la doxorubicina convencional.

3. Hipótesis

La doxorubicina encapsulada en SLN tendrá una mayor biodisponibilidad en comparación a la doxorubicina convencional.

4. Justificación y planteamiento del problema

La doxorubicina es un agente quimioterapéutico ampliamente utilizado en el tratamiento de diversos tipos de cáncer, sin embargo, su efectividad clínica se ve limitada por su baja selectividad hacia las células tumorales, lo que conlleva a la aparición de efectos secundarios graves, como cardiotoxicidad y mielosupresión. Para abordar este problema, se ha explorado la encapsulación de la doxorubicina en nanopartículas sólido-lipídicas (SLN) como una estrategia potencial para mejorar su biodisponibilidad reduciendo la cantidad de fármaco y en consecuencia la toxicidad sistémica.

5. Marco teórico

La aparición de la nanotecnología ha beneficiado al campo médico con la finalidad de favorecer diagnósticos y tratamientos terapéuticos, una de ellas son las nanopartículas (Rojas *et. al.* 2016). La nanopartícula es una partícula de tamaño nanométrico que para ser visible al ojo humano requiere ser observada mediante un microscopio y es tan pequeña que tiene una dimensión menor a 100 nanómetros (Durán *et. al.* 2021). Uno de los tipos de nanopartículas son las lipídicas estas utilizan lípidos fisiológicamente aceptables para su preparación, presentan una mejor biodisponibilidad, protegen las moléculas de fármacos susceptibles de degradarse bajo la influencia de agentes externos como la luz y el agua, poseen un núcleo sólido lipídico que puede solubilizar fármacos lipofílicos y el núcleo lipídico se estabiliza con tensoactivos o emulsificantes. (Mendoza. *et. al.* 2021).

Se ha observado que las SLN pueden encapsular doxorubicina (Fundaró. *et. al.* 2000) que es un fármaco antineoplásico de amplio espectro que ejerce su efecto citotóxico al actuar en la replicación, la transcripción y la fragmentación del ADN, interfiere por intercalación en la síntesis del ARN dependiente del ADN. Además, doxorubicina también ejerce un efecto citotóxico mediante estrés oxidativo que conduce a apoptosis celular (Consejo de Salubridad General, 2016). Está indicada en diferentes tumores sólidos (carcinoma de mama, carcinoma microcítico de pulmón, carcinoma gástrico y tumores ginecológicos, entre otros), tumores

hematológicos (linfomas, leucemias y mieloma múltiple), sarcomas y tumores sólidos pediátricos (Ansar *et. al.* 2020).

La farmacocinética estudia como el organismo afecta a los fármacos, permite conocer la biodisponibilidad sistémica de una molécula en un organismo, ayuda a la prevención de toxicidad y facilita el diseño y evaluación de nuevos fármacos.

Los parámetros farmacocinéticos ayudan a entender el comportamiento del fármaco con la concentración máxima y mínima, el área bajo la curva que representa la exposición total del organismo al fármaco, volumen de distribución, tiempo de vida media y la biodisponibilidad (Pardo, J. *et. al.* 2001).

6. Materiales y métodos

6.1. Reactivos

Se utilizó compitrol 888 ATO obtenido de la farmacéutica GATTEFOSSÉ®, pluronic F-127 de Sigma-Aldrich®, ácido esteárico de Sigma Aldrich®, alcohol y acetona de J.T. Barker® y agua Milli Q® del equipo Millipore®.

6.2. Métodos

6.2.1. Preparación y caracterización de SLN con doxorubicina

Para la preparación de nanopartículas se utilizó el método de homogeneización en caliente (Vijay *et al.* 2018) se preparó una fase acuosa con F127 y agua por otro lado, se obtuvo una fase orgánica con compitrol, lípido catiónico y ácido esteárico en alcohol metílico y acetona.

Las dos fases se llevaron a temperatura de 80°C por separado y una vez disueltos cada componente se mezcló y se homogenizó durante 10 minutos a 15 000 rpm. Una vez transcurrido el tiempo se estabiliza la formulación con un cambio de temperatura y se mantiene en agitación por 10 minutos a 400 rpm.

NOTA: Para la encapsulación de doxorubicina se implementó el mismo método adicionando la doxorubicina a la fase orgánica.

6.3. Administración del fármaco

Se utilizó dos grupos de ratas con una n=6 cada uno. El primer grupo recibió una dosis de 6 mg/kg de doxorrubicina libre por vía intravenosa y el segundo grupo recibirá la misma dosis de doxorrubicina en SLN. Para la obtención de las muestras sanguíneas, se realizará una canulación de la arteria caudal de las ratas, y se toman 200 μ L de sangre total en intervalos de tiempo: 5 min, 15 min, 30 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 6h, 8h, 12, 24h, 48h.

6.4. Sujetos de experimentación

Se usaron ratas Wistar machos de un peso entre 200-250 g, el protocolo aprobado por los comités de ética, investigación y CICUAL del Instituto Nacional de Cancerología con el No. (023/032) (CEI/036/23).

Para evaluar la farmacocinética de las SLN de doxorrubicina, se administró por vía intravenosa 2 mg/kg de doxorrubicina, se sometieron a anestesia a las ratas con isoflurano, se introdujo una cánula en la arteria caudal y yugular de la rata utilizando heparina para evitar coagulaciones y se tomaron las muestras de sangre a los 5 min, 15 min, 30 min, 1h, 2h, 3h, 4h, 6h, 8h, 12, 24h, 48h (*Fundaró. et. al. 2000*).

6.5. Cuantificación de doxorrubicina en plasma

La doxorrubicina se extrajo de las muestras plasmáticas utilizando metanol como solvente orgánico y se analizara por HPLC con una fase móvil de formiato de amonio-acetonitrilo 60:40, tiempo de corrida de 4 min cada muestra y columna C18 (Octadecilsilano) (*Vijay et. al. 2018*).

7. Resultados y discusión

7.1. Encapsulación de doxorrubicina

Se cuantificó por HPLC las muestras obtenidas en el plasma de las ratas, en la figura 1 se muestra el cromatograma obtenido de la cuantificación de doxorrubicina

por HPLC con un tiempo de retención de 2.0 minutos para doxorubicina y 2.5 minutos para el estándar interno (daunorrubicina).

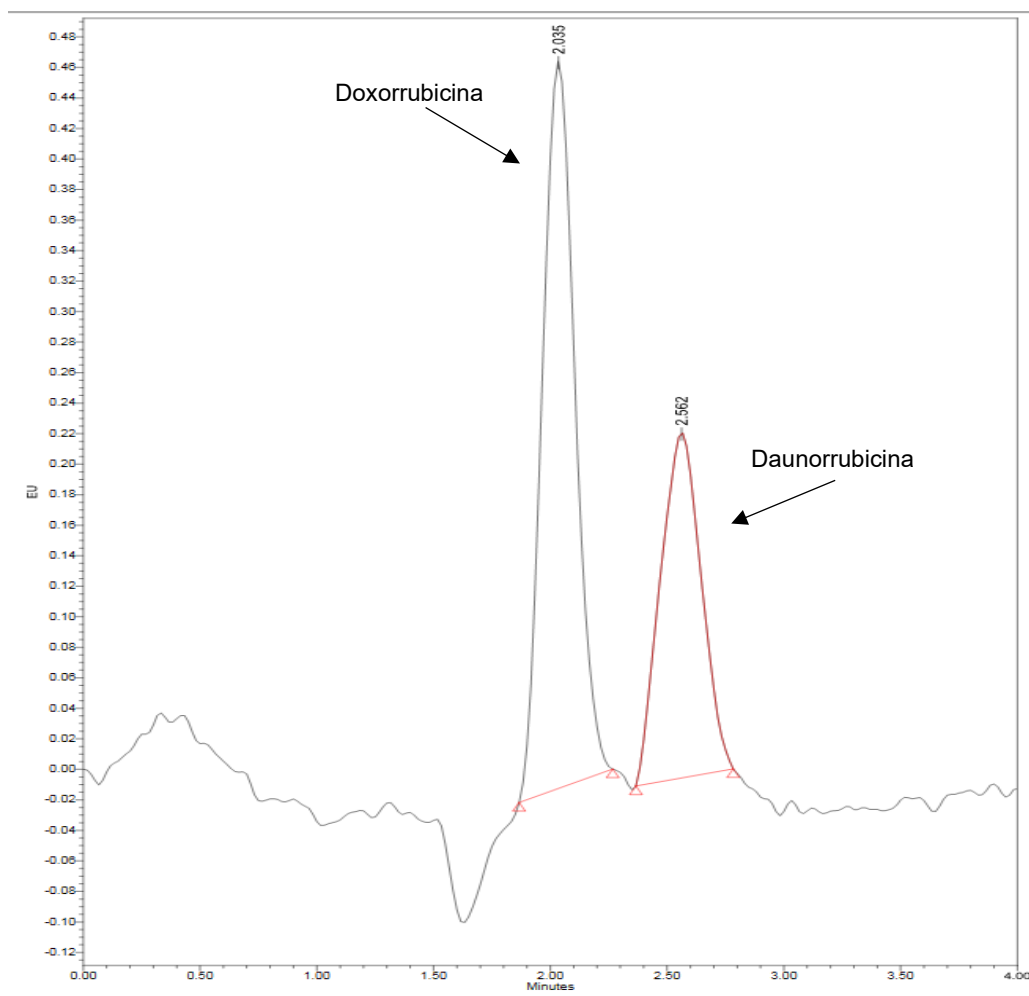


Figura 1. Cromatograma de doxorubicina con una concentración de 50 $\mu\text{g/mL}$ obtenido por HPLC.

Para cuantificar la concentración de doxorubicina encapsulada en nanopartículas solido-lipídicas se realizó una curva de calibración de 1 a 50 $\mu\text{g/mL}$ (*Figura 2*), obteniéndose una concentración del fármaco encapsulado de 1.98 mg/mL. Por medio de la cuantificación se obtiene que el porcentaje de encapsulación, el cual fue del 98%, las nanopartículas tuvieron un tamaño de partícula de 230.5 nm con un índice de polidispersión de 0.140 y un potencial Z de 53.62 mV.

En artículos se ha reportado que la doxorubicina se encapsuló en nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) con una eficiencia de encapsulamiento de 87% y en nanopartículas híbridas de polímero lipídico (LPHN) utilizando ácido esteárico como lípido sólido se ha logrado una eficiencia de encapsulación de 95.5%, potenciando su biodisponibilidad oral (Abbas, S. *et. al.* 2022 & Muhammad, S. *et. al.*, 2023).

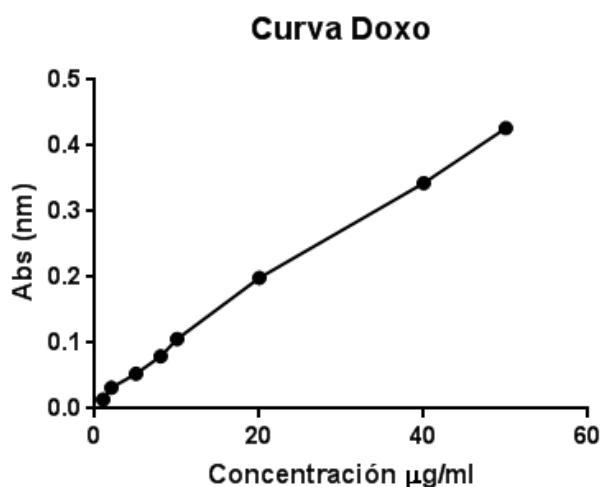


Figura 1. Curva de calibración de doxorubicina (Doxo).

7.2. Determinación de la biodisponibilidad de la doxorubicina

La concentración plasmática de doxorubicina, después de la administración de la formulación de nanopartículas, permanece sostenida en el sistema; las concentraciones de doxorubicina en NSL (NSL-doxo) se mantiene hasta 2 horas después de su administración; mientras que las concentraciones plasmáticas de doxorubicina en su formulación convencional caen rápidamente durante la primera hora (Figura 3).

De acuerdo con un artículo reportado, se demuestra que las nanopartículas híbridas de polímero lipídico cargadas con doxorubicina se mantuvieron hasta las 24 horas mientras que la doxorubicina convencional permaneció hasta las 16 horas, mejorando significativamente la farmacocinética (Muhammad, S. *et. al.*, 2023). La

diferencia se puede atribuir al número de muestras y en el caso de la doxorubicina convencional el cambio se atribuye al tiempo de vida media del fármaco.

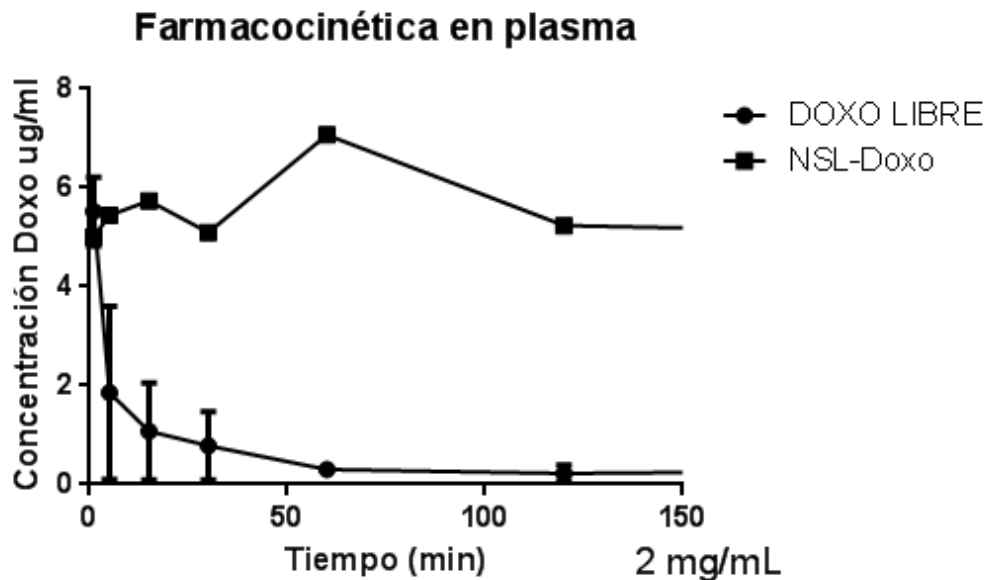


Figura 3. Curva de concentración plasmática de doxorubicina después de una administración iv. de 2 mg/mL de la formulación convencional (DOXO LIBRE) y la formulación de nanopartículas solido-lipídicas (NSL-Doxo). Cada uno representa el promedio de 2 animales.

8. Conclusiones

Las nanopartículas encapsuladas con doxorubicina mostraron una mayor biodisponibilidad en comparación con la doxorubicina convencional. No fue posible calcular parámetros farmacocinéticos dado a un número de muestras reducido debido a la complejidad del modelo de estudio farmacocinético.

Estos resultados sugieren que la formulación podría mejorar la eficacia terapéutica al prolongar la presencia del fármaco en el organismo, sin embargo, estas conclusiones son preliminares y requieren confirmación mediante estudios adicionales.

9. Perspectivas

Estudiar los parámetros farmacocinéticos de doxorubicina para comprender el comportamiento de las nanopartículas solido-lipídicas en el organismo para su inclusión en el tratamiento contra el cáncer de mama.

Evaluar las mejoras terapéuticas que pudieran obtenerse de la administración de las nanopartículas solido-lipídicas de doxorubicina en modelos de cáncer de mama.

Evaluar los posibles efectos adversos que pudieran observarse de la administración de las nanopartículas solido-lipídicas de doxorubicina en modelos de cáncer de mama.

10. Referencias

1. Vijay, M, Bansal, K. K., Verma, A., Yadav, N., Thakur, S., Sudhakar, Rosenholm, K., & Jessica, M. (2018). Solid Lipid Nanoparticles: Emerging Colloidal Nano Drug Delivery Systems. *Pharmaceutics*, 10.
2. Ansar, F. H. Z., Latifah, S. Y., Kamal, W. H. B., Khong, K. C., Ng, Y., Foong, J. N., Gopalsamy, B., Ng, W. K., How, C. W., Ong, Y. S., Abdullah, R., & Aziz, M. Y. (2020). Pharmacokinetics and Biodistribution of Thymoquinone-loaded Nanostructured Lipid Carrier After Oral and Intravenous Administration into Rats. *International Journal of Nanomedicine*, 15, 7703–7717.
3. Durán, E. M., Moreno, D. H., Santiyán, M. P. M., Rodríguez, F. S., & López, M. P. (2021). LAS NANOPARTÍCULAS Y SUS APLICACIONES BIOMÉDICAS. Universidad de Extremadura. <https://dehesa.unex.es/bitstream/10662/11784/1/978-84-09-25218-3.pdf>
4. Rojas-Aguirre, Y., Aguado-Castrejón, K., & González-Méndez, I. (2016). La nanomedicina y los sistemas de liberación de fármaco: la revolución de la terapia contra el cáncer. *UNAM*, 27, 286–291. <https://www.scielo.org.mx/pdf/eq/v27n4/0187-893X-27-04-00286.pdf>
5. Le, J. (2022). Generalidades sobre la farmacocinética. Manual MSD. Recuperado el 13/02/2024 en: <https://www.msdmanuals.com/es/professional/farmacolog%C3%ADa-cl%C3%ADnica/farmacocin%C3%A9tica/generalidades-sobre-la->

[farmacocin%C3%A9tica#:~:text=La%20farmacocin%C3%A9tica%2C%20que%20a%20veces,Las%20formas%20farmac%C3%A9uticas%20\(p.](#)

6. Consejo de Salubridad General. (2016). Cuadro Básico y Catálogo de Medicamentos. SEGOB.
http://www.csg.gob.mx/descargas/pdf/priorizacion/cuadro-basico/med/catalogo/2016/EDICION_2016_MEDICAMENTOS.pdf
7. Fundaró, A., Cavalli, R., Bargoni, A., Vighetto, D., Zara, G. P., & Gasco, M. R. (2000). Non-Stealth and Stealth Solid Lipid Nanoparticles (SLN) Carrying Doxorubicin: Pharmacokinetics and Tissue Distribution After I.V Administration to Rats. *Pharmacological Research*, 42, 339–343.
8. Wang, J., Chen, J., Ye, N., Luo, Z., Cai, X., & Lin, Y. (2012). Absorption, Pharmacokinetics and Disposition Properties of Solid Lipid Nanoparticles (SLNs). *Current Drug Metabolism*, 13, 447–456.
9. Abbas, Soltani., Parvaneh, Pakravan. (2022). 12. Preparation and Characterization of Magnetic Solid Lipid Nanoparticles as a Targeted Drug Delivery System for Doxorubicin. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, doi: 10.34172/apb.2023.03
10. Muhammad, Shafique., Maqsood, Ur, Rehman., Zul, Kamal., Rami, Alzhrani., Sameer, Alshehri., Ali, Hamod, AlAmri., Mohammed, Ali, Bakkari., Fahad, Y., Sabei., Awaji, Y., Safhi., Ahmed, M., Mohammed., Mohamed, A., El, Hamd., Saud, Almawash. (2023). 6. Formulation development of lipid polymer hybrid nanoparticles of doxorubicin and its in-vitro, in-vivo and computational evaluation. *Frontiers in Pharmacology*, doi: 10.3389/fphar.2023.1025013