

## Base preclínica de sistemas lipídicos nanoestructurados (NLC) cargados con bevacizumab: diseño, desarrollo y caracterización fisicoquímica

Varela Fernández Rubén <sup>\*1,2</sup>, García Otero Xurxo<sup>1,3</sup>, Fernández Ferreiro Anxo<sup>3</sup>, Lema María Isabel<sup>2</sup>, González Barcia Miguel<sup>4</sup>, Otero Espinar Francisco J<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Farmacia, Farmacología y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Santiago de Compostela (USC). Campus vida. Santiago de Compostela. Código postal: 15782. España. Francisco.

<sup>2</sup> Grupo de Investigación en Neurociencias clínicas. Hospital Clínico Universitario, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS). Travesía da Choupana s/n Santiago de Compostela. Código postal: 15706. España.

<sup>3</sup> Grupo de Imagen Molecular. Hospital Clínico Universitario, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS). Travesía da Choupana s/n Santiago de Compostela. Código postal: 15706. España.

<sup>4</sup> Grupo de Farmacología Clínica. Hospital Clínico Universitario, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS). Travesía da Choupana s/n Santiago de Compostela. Código postal: 15706. España.

\*Correspondencia: rubenvfl@gmail.com

### 1. Introducción

Bevacizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado que ha demostrado eficacia en el tratamiento de algunas enfermedades neoplásicas (cáncer de colon, de mama, de pulmón no microcítico y de células renales), así como en patologías oculares como la DMAE y la retinopatía diabética [1]. Su mecanismo de acción se fundamenta en la unión al factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), inhibiendo así la unión de éste a sus receptores Flt 1 (VEGFR 1) y KDR (VEGFR 2), situados en la superficie de las células endoteliales, provocando una reducción de la angiogénesis, principal mecanismo fisiopatológico involucrado en estas enfermedades.

Se han identificado mecanismos de resistencia, incluyendo la alteración de la expresión o la unión del antígeno, el deterioro de la citotoxicidad mediada por el complemento (CMC) o la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). A raíz de esto, se propone la encapsulación de este anticuerpo en sistemas lipídicos de tamaño nanométrico con la finalidad de aumentar su estabilidad, conferir protección y vectorizar el anticuerpo al lugar deseado [2].

### 2. Materiales y métodos

#### 2.1. Materiales

Bevacizumab (Avastín<sup>®</sup>) fue proporcionado por el Servicio de Farmacia Hospitalaria del Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela. Cetilpalmitato fue comprado a Acros Organics (Madrid, España). Myglyol 812N fue cedido por IOI Oleo GmbH (Witten, Alemania). Poloxamer 407 ha sido comprado a Sigma-Aldrich (St Louis, EEUU).

#### 2.2. Metodología

##### 2.2.1. Diseño y desarrollo de NLC cargados con bevacizumab

La preparación de los NLC cargados con bevacizumab se ha llevado a cabo mediante una técnica modificada de doble emulsión/ evaporación. Se prepararon dos tipos de NLC, unos con núcleo acuoso y otros con núcleo gelificado. Se ha llevado a cabo un estudio factorial previo con la finalidad de valorar la composición óptima de los NLC, así como las condiciones del proceso de preparación.

### 2.2.2. Caracterización fisicoquímica

#### 2.2.2.1. Tamaño, distribución de tamaño y carga superficial

La caracterización fisicoquímica en cuanto a tamaño, distribución de tamaño y carga superficial de los NLC cargados con bevacizumab se ha llevado a cabo mediante una técnica de dispersión dinámica de la luz (DLS).

#### 2.2.2.2. Estudio de la morfología

El estudio de la morfología de los NLC se ha realizado mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM), tras tinción con ácido fosfotúngstico, colocación en placas de cobre y posterior secado.

#### 2.2.2.3. Rendimiento de producción, eficacia de encapsulación y capacidad de carga

La determinación del rendimiento de producción se ha realizado por un método directo, basado en la relación entre la cantidad de producto final e inicial. Por su parte, la evaluación de la eficacia de producción y la capacidad de carga de los NLC se llevó a cabo mediante una técnica de ultracromatografía líquida de alta resolución (UPLC) a través de un método de difusión en gradiente diseñado para la detección de bevacizumab.

El efecto de la cantidad de bevacizumab en las características fisicoquímicas de los NLC se ha evaluado en términos de tamaño, distribución de tamaño y carga superficial y posteriormente se correlacionaron con los valores de eficacia de encapsulación y capacidad de carga.

## 3. Resultados y Discusión

### 3.1. Diseño y desarrollo de NLC cargados con bevacizumab

El procedimiento de preparación de los NLC cargados con bevacizumab ha sido adecuado, permitiendo la encapsulación y estabilización de dicho anticuerpo en sistemas de tamaño nanométrico.

### 3.2. Caracterización fisicoquímica

#### 3.2.1. Tamaño, distribución de tamaños y carga superficial

Los NLC cargados con bevacizumab se presentan como una población muy uniforme y homogénea, sin agregación ni precipitación. Además, mostraron valores adecuados de carga superficial derivados de la carga intrínseca de los lípidos, aspecto que garantiza su estabilidad en el tiempo.

#### 3.2.2. Estudio de la morfología

Ambos tipos de NLC presentaban un núcleo acuoso, son redondas, uniformes y con superficie lisa. Por tanto, a priori se trataría de sistema lipídico de tipo repertorio, útil para procesos de liberación controlada de bevacizumab.

#### 3.2.3. Rendimiento de producción, eficacia de encapsulación y capacidad de carga

Se han obtenido valores elevados tanto a nivel de rendimiento de producción, como de eficacia de encapsulación y capacidad de carga, asegurando que el método de preparación es apropiado para la encapsulación de bevacizumab.

## 4. Conclusiones

Se propone, por primera vez, un sistema lipídico nanoestructurado para la encapsulación de bevacizumab como forma de aumentar su estabilidad, reducir los posibles efectos asociados a su administración y mejorar su biodisponibilidad. Su diseño y desarrollo se vieron reforzados por una consistente base de caracterización *in vitro*. Asimismo, dicho sistema NLC mostró características fisicoquímicas adecuadas para la administración de bevacizumab.

### Agradecimientos

RVF y XGO agradecen el apoyo financiero de la Fundación FIDIS (Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela). Esta investigación ha sido parcialmente apoyada por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (RTI2018-099597-B-100)

## Referencias bibliográficas

1. Keating GM. Bevacizumab: a review of its use in advanced cancer. *Drugs*. 2014 Oct;74(16):1891-1925. doi: 10.1007/s40265-014-0302-9. PMID: 25315029.
2. Luan J, Zhang D, Hao L, Li C, Qi L, Guo H, Liu X, Zhang Q. Design and characterization of Amoitone B-loaded nanostructured lipid carriers for controlled drug release. *Drug Deliv*. 2013 Nov;20(8):324-30. doi: 10.3109/10717544.2013.835007. Epub 2013 Sep 13. PMID: 24032657.

Este trabajo debe ser citado como:

Varela Fernández R, García Otero X, Fernández Ferreiro A, Lema MI, González Barcia M, Otero Espinar FJ . Base preclínica de sistemas lipídicos nanoestructurados (NLC) cargados con bevacizumab: diseño, desarrollo y caracterización fisicoquímica. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):87-9.