

## Efecto del bromuro de didodecildimetilamonio sobre liposomas de curcumina doblemente cargados

Fernández Romero Ana María \*, González Rodríguez María Luisa, Rabasco Antonio María

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla

\*Correspondencia: anaferrom2@alum.us.es

### 1. Introducción

La curcumina (Cur) es un polifenol con actividad antiinflamatoria muy apreciado en medicina tradicional. Sin embargo, su baja solubilidad y biodisponibilidad reducen su uso potencial [1]. Una posible solución a este problema sería el empleo de liposomas. No obstante, la capacidad de estas vesículas de condensar bicapas puede limitar la cantidad de Cur que el sistema es capaz de retener [2]. Con el objetivo de aumentar la cantidad de Cur retenida en el sistema, el grupo de investigación ha optimizado la elaboración de sistemas de carga doble (double-loading) que combinan el uso de liposomas con 2-hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina (HP $\beta$ CD), de forma que el fármaco se encuentre simultáneamente en ambos compartimentos del sistema, en la bicapa y en el núcleo acuoso (double-loaded drug-in cyclodextrin-in liposomes, DCL-DL)[3].

Los DCL-DL formulados contenían bromuro de didodecildimetilamonio (DDAB), un tensioactivo con forma cónica conocido por su capacidad para estabilizar bicapas [4]. Sin embargo, este tensioactivo, al igual que otros con carga positiva, puede resultar citotóxico [5], lo que limitaría su posible uso in vivo. No obstante, su ausencia podría comprometer la estabilidad del liposoma. Por ello, el objetivo del presente trabajo es demostrar que los DCL-DL con y sin DDAB no presentan diferencias significativas en sus características fisicoquímicas con el tiempo.

### 2. Materiales y métodos

#### 2.1. Preparación de los sistemas

##### *2.1.1. Preparación del complejo Cur-HP $\beta$ CD*

El complejo se preparó disolviendo 14.5 mM de HP $\beta$ CD y 0.4 mM de Cur en tampón cítrico/fosfato disódico a pH 5.4. El sistema se agitó durante 72 h y, posteriormente, se centrifugó a 1000 rpm durante 10 min. Finalmente, se cuantificó la cantidad de Cur mediante espectrofotometría UV/VIS a 420 nm.

##### *2.1.2. Preparación de los liposomas*

Los liposomas se prepararon empleando la técnica de evaporación en capa fina (Thin Layer Evaporation, TLE). Brevemente, los componentes lipídicos fueron disueltos en 4.8 mL cloroformo y 3.2 mL metanol en un matraz de fondo redondo. Una vez evaporados los disolventes, el film formado fue resuspendido empleando 3 mL de solución del complejo Cur-HP $\beta$ CD.

#### 2.2. Estudio comparativo de las formulaciones

##### *2.2.1. Estudio de estabilidad*

Para la realización de este estudio, se formularon DCL-DL con y sin DDAB. Se tomaron 5 muestras, una a las 24 h y las 4 restantes a los 3, 6, 15 y 24 días. Los parámetros analizados fueron tamaño, carga superficial, eficacia de encapsulación y oxidación de Cur. Todos los parámetros se analizaron siguiendo lo descrito en [3].

**Tabla 1:** Resultados del estudio de estabilidad. Los datos muestran el tamaño (size, nm), el potencial zeta (zeta, mV) y la eficacia de encapsulación (EE, %) de las muestras con DDAB (normal) y sin DDAB (negrita)

	Día 1	Día 3	Día 6	Día 15	Día 24
Size	3298±1223 <b>3530.7±1261</b>	3586.7±1082 <b>2927.7±731</b>	2952.2±1189 <b>3018.5±764</b>	2861.3±857 <b>2368.8±427</b>	2659.1±766 <b>2136.4±597</b>
Zeta	24.05±3.84 <b>16.18±2.70</b>	27.58±2.53 <b>17.1±2.97</b>	27.62±2.31 <b>16.18±0.40</b>	28.4±2.97 <b>17.23±3.58</b>	26.33±2.63 <b>16.92±2.32</b>
EE	60.59±0.20 <b>58.62±5.05</b>	49.78±2.85 <b>50.89±1.73</b>	50.61±1.15 <b>58.03±0.62</b>	51.10±2.15 <b>51.86±6.13</b>	54.00±3.15 <b>56.89±5.46</b>

### 2.2.2. Deformabilidad

Para conocer la influencia del DDAB sobre las bicapas, se estudió la deformabilidad de las mismas en ambos sistemas. Para ello, 1 mL de muestra fue extruido dos veces por un filtro de policarbonato de 800 nm. A continuación, la muestra homogeneizada fue extruida por un filtro de 100 nm a una presión de 40 bares durante cinco minutos. La elasticidad del sistema se calculó empleando la fórmula:

$$DI = J_{flux} \left( \frac{rv}{rp} \right)^2$$

siendo  $J_{flux}$  la velocidad de flujo (mL/min),  $rv$  el diámetro hidrodinámico de los liposomas y  $rp$  el diámetro de poro del filtro utilizado.

## 3. Resultados y Discusión

### 3.1. Estudio de estabilidad

En cuanto a la eficacia de encapsulación (EE), no se aprecia diferencias significativas entre ambos sistemas salvo el día 6. Con el paso de los días, los sistemas descienden en cantidad de Cur atrapada a partir del día 3, pero permanecen estables posteriormente.

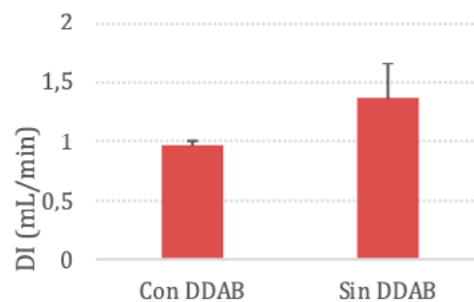
La oxidación del sistema fue estudiada mediante ABTS. Ambos sistemas mantienen una capacidad antioxidante similar durante todo el estudio. No obstante, aunque no existen diferencias significativas ente los lotes a lo largo del tiempo, sí hay un aumento de la variabilidad que podría indicar que la capacidad antioxidante de Cur se ve afectada a lo largo del tiempo.

### 3.2. Deformabilidad

Como se puede apreciar en la Fig.2, existe una diferencia extremadamente significativa entre los liposomas con DDAB y los liposomas sin DDAB. Esto podría deberse a un cambio en el empaquetamiento de la bicapa al retirar el tensioactivo.

## 4. Conclusiones

De los estudios realizados se puede concluir que los DCL-DL con y sin DDAB no presentan diferencias significativas que puedan afectar a futuros ensayos in vivo. Con este cambio en formulación evitaremos posibles efectos tóxicos derivados de su uso.



**Fig. 2:** Deformabilidad de los liposomas con y sin DDAB.

## Referencias bibliográficas

1. Siviero A, Gallo E, Maggini V, et al. Curcumin, a golden spice with a low bioavailability. *J Herb Med.* 2015;5:57–70.
2. Karewicz A, Bielska D, Gzyl-Malcher B, et al. Interaction of curcumin with lipid monolayers and liposomal bilayers. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2011;88:231–9.
3. Fernández-Romero AM, Maestrelli F, Mura PA, Rabasco AM, González-Rodríguez ML. Novel findings about double-loaded curcumin-in-HP $\beta$ cyclodextrin-in liposomes: Effects on the lipid bilayer and drug release. *Pharmaceutics.* 2018;10(256):1-27.
4. Proverbio ZE, Schulz PC, Puig JE. Aggregation of the aqueous dodecyl-trimethylammonium bromide-didodecyldimethylammonium bromide system at low concentration. *Colloid Polym Sci.* 2002;208:1045–52.
5. Filion MC, Phillips NC. Toxicity and immunomodulatory activity of liposomal vectors formulated with cationic lipids toward immune effector cells. *Biochim Biophys Acta BBA - Biomembr.* 1997;1329:345–56.

Este trabajo debe ser citado como:

Fernández Romero AM, González Rodríguez ML, Rabasco AM. Efecto del bromuro de didodecildimetilamonio sobre liposomas de curcumina doblemente cargados. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):154-6.