

Nuevos aspectos biofarmacéuticos en nanotecnología farmacéutica

Recibido el 17 de septiembre de 2007

JOSÉ LUIS VILA JATO*

*Académico de la Real Academia Nacional de Farmacia
Presidente de la Sección de Tecnología Farmacéutica*

RESUMEN

Para hacer frente al reto de la Nanomedicina, la Tecnología Farmacéutica ha desarrollado sistemas nanométricos que contienen el principio activo incluido en un vehículo que lo transporta. Como sistemas nanométricos permiten que el fármaco que llevan pueda atravesar las diferentes barreras biológicas del organismo lo cual no se podía realizar con los sistemas de liberación convencionales ya que en éstos son fundamentalmente las propiedades fisicoquímicas del principio activo las que condicionan su absorción y biodistribución.

La Nanotecnología Farmacéutica, término que paulatinamente se va introduciendo en prestigiosas publicaciones como el Journal of Pharmaceutical Sciences, como ciencia y tecnología de los sistemas farmacéuticos nanoparticulares presenta además de una fuerte base fisicoquímica, un mayor componente biológico ya que en ella intervienen nuevos aspectos biofarmacéuticos y farmacocinéticos.

La internalización o paso de los nanosistemas al interior celular es un proceso cuyo conocimiento es cada vez mas imprescindible, resaltándose algunos de los aspectos mas novedosos como el papel de los llamados péptidos fusógenos. Igualmente tiene cada vez mas relevancia el conocimiento de los procesos que protegen al fármaco de su degradación en los endolisosomas (por ejemplo el efecto esponja de protones de las polietileniminas y los factores que controlan la rápida liberación del nanosistema de los endolisosomas (vectores lisosomotrópicos); con vistas a la utilización de fármacos cuya diana se encuentra en el interior del núcleo celular, interesa destacar el transporte activo por medio del complejo poro nuclear.

Finalmente se expone el papel de los llamados excipientes funcionales, los cuales han hecho cambiar el concepto clásico de un excipiente farmacéutico, ya que

* e-mail: vilajato@vilajato.e.telefonica.net

cada vez existen mayores evidencias de que polímeros como poloxamer, poloxaminas y polietilenglicoles pueden modificar señales de trasducción intracelular e incrementar la eficacia de ciertos principios activos.

Palabras clave: Nanotecnología Farmacéutica; Nanovehículos; Aspectos biofarmacéuticos.

ABSTRACT

New biopharmaceutical aspects in pharmaceutical nanotechnology.

The use of various pharmaceutical nanocarriers has become one of the most important areas of Nanomedicine. Ideally, such carriers should be specifically deliver the drug to the pathological area to provide the maximum therapeutic efficacy. The concept of «magic bullets» given by Ehrlich has now emerged in the form of targeted drug delivery systems and polymeric nanopartycles, liposomes, micelles, dendrimers and polymer-drug conjugates are the vanguards of this ever-evolving field. The specific targeting ligands which guide the drug carriers to the molecular targets be it on cell surface or nuclear membranes implies new biopharmaceutical aspects such us a better understanding of the physiological barriers, half-life of the nanosystems in the blood stream, the presence of receptors on cell membranes, the different mechanisms of internalization of nanostructures, intracellular trafficking and interactions.

It is conceivable, that despite all the formidable challenges, interplay of different disciplines ranging from engineering to biology will make a new promising field in Pharmaceutical Technology: the Pharmaceutical Nanotechnology.

Key words: Pharmaceutical Nanotechnology; Biopharmaceutics; Nanocarriers.

La Farmacia Galénica debe tener como objetivo la resolución de un problema farmacoterapéutico aplicando los conocimientos aportados por la Tecnología Farmacéutica y la Biofarmacia. El creciente número de moléculas procedentes de la Biotecnología ha supuesto una profunda transformación en la Tecnología Farmacéutica ya que ello supone la necesidad de disponer de nuevas formas de dosificación para estas moléculas las cuales presentan un crecimiento importante ya que si en el año 2000 constituían el 25% de los medicamentos presentados ante la EMEA actualmente representan el 50%.

Las características que poseen los productos biotecnológicos limitan frecuentemente su utilización terapéutica ya que en muchos

casos se requiere una administración i.v.; por su naturaleza presentan una baja biodistribución y un elevado aclaramiento y, por otra parte, un gran número de estas nuevas moléculas necesitan una vectorización u orientación selectiva que les permita alcanzar sus dianas en compartimentos de difícil acceso como puede ser el interior de la célula. A pesar de ello, y dado que en muchos casos presentan una elevada actividad intrínseca, se considera suficiente la llegada al órgano diana de cantidades del orden del 10% de la dosis administrada.

El arsenal terapéutico disponible en la actualidad comprende fármacos de muy variada complejidad, desde las moléculas sencillas hasta las complejas macromoléculas como proteínas o derivados del ADN, para las que es necesaria una orientación selectiva hacia sus dianas terapéuticas en las que conseguir niveles terapéuticos relevantes. De forma esquemática, y tal como se recoge en la Figura 1, las formulaciones vectorizadas permitirían obviar las diferentes barreras con las que se encuentra un fármaco para alcanzar su diana terapéutica.

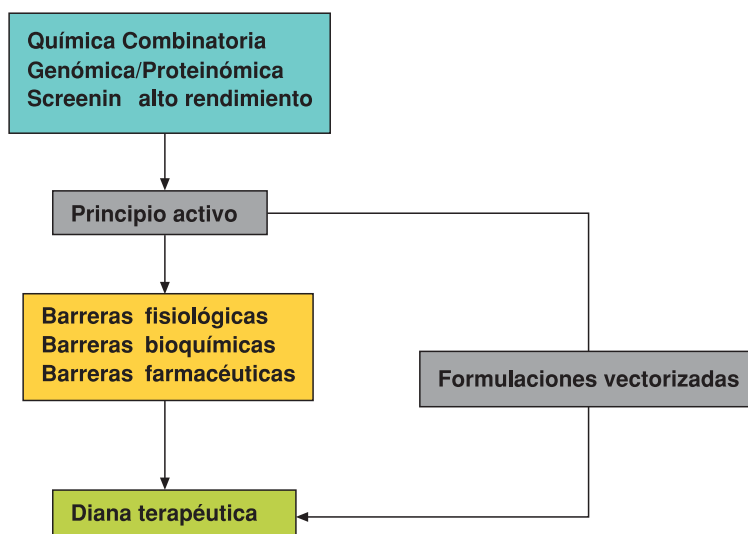


FIGURA 1. *Esquema de la vectorización de fármacos y papel que representan los nanosistemas para obviar las barreras fisiológicas (epitelios y membranas celular y nuclear), bioquímicas (inactivación enzimática) y farmacéuticas (inestabilidad física y química).*

En los últimos años ha tenido lugar un creciente interés, apoyado en un espectacular crecimiento, de las nanotecnologías y existe un gran optimismo, en mi opinión exagerado en ocasiones como el llegar a fijar el año 2015 como fecha para la curación del cáncer, pero lo que si es indudable es que la aplicación de la nanotecnología a las ciencias biomédicas supone unas mejores oportunidades de diagnóstico y unas terapéuticas más efectivas lo que ha llevado a acuñar el término de Nanomedicina cuya misión, según la Plataforma Española de Nanomedicina, sería el desarrollo de aquellas prácticas médicas, incluyendo la prevención, el diagnóstico y la terapia que requieren tecnologías basadas en interacciones entre el cuerpo humano y materiales, estructuras o dispositivos cuyas propiedades se definen a escala nanométrica.

El Instituto Nacional del Cáncer de EEUU comenzó en el año 2005 el Plan Nanotecnológico del Cáncer (Figura 2), cuya duración es de 10 años y con el que se pretende un cambio radical en los métodos de tratamiento, diagnóstico y prevención del cáncer. Para ello desarrolla programas con la finalidad de producir entidades multifuncionales, a escala nanométrica, que puedan diagnosticar, liberar agentes terapéuticos y permitir la monitorización en el progreso de los tratamientos oncológicos.

Igualmente la Plataforma Europea de Nanomedicina, dependiente de la Fundación Europea para la Ciencia, ha publicado en no-



FIGURA 2. *Portada del Plan Nanotecnológico del Cáncer (US National Cancer Institute 2005).*

viembre de 2006 la Agenda Estratégica de investigación en Nanomedicina en la que se incluyen las prioridades, para los próximos años, en diagnóstico, vectorización de fármacos y medicina regenerativa, señalando que, en la liberación de fármacos, las actividades deben iniciarse en los siguientes campos: trastornos cardiovasculares, cáncer, trastornos inflamatorios y musculoesqueléticos, trastornos neurodegenerativos, diabetes y enfermedades infecciosas.

El Instituto Nacional de la Salud de EEUU estima que para el año 2010 más del 50% de los avances en las ciencias biomédicas corresponderán al sector nanotecnológico basándose en las siguientes previsiones:

► Desde el punto de vista de la industria farmacéutica alcanzar una eficiente liberación del fármaco se considera como una característica esencial del producto y principalmente para las nuevas moléculas biotecnológicas en las que complejas barreras limitan su éxito clínico. Incluso, para los fármacos ya existentes, la industria farmacéutica busca nuevas formulaciones que aumenten el ciclo vital del fármaco mediante unas mejores características o nuevas indicaciones con respecto a las existentes. Esta estrategia de bajo riesgo/alta rentabilidad centra el problema en la liberación del fármaco ya que los riesgos inherentes a su utilización son conocidos.

► Estudios farmacoeconómicos realizados en ensayos clínicos oncológicos revelan que las nuevas formulaciones nanotecnológicas de antineoplásicos pueden resultar altamente competitivas frente a las clásicas formulaciones. Por ejemplo, con las formulaciones de doxorubicina en liposomas, el coste global del tratamiento es mas bajo al requerirse una menor frecuencia de administración y ser menores las intervenciones para disminuir los efecto secundarios. En general se espera que el uso de sistemas nanotecnológicos será favorable en aquellos casos en que la vectorización del fármaco es crucial para su eficacia y reducir sus efectos secundarios, aspectos especialmente importantes en la terapéutica oncológica y de las infecciones severas.

► Los éxitos alcanzados por las compañías Sequus Pharmaceutical, Liposome Company y Gilead en la aplicación de los liposomas a la clínica han supuesto en el plano tecnológico un profundo conocimiento de la preparación industrial de liposomas convencionales y

estéricamente estabilizados y de su comportamiento in vivo. Ello ha dado lugar a que en la actualidad se encuentren en fase clínica de desarrollo 29 formulaciones de liposomas conteniendo agentes citotáticos, antiinfecciosos y analgésicos. Estas buenas perspectivas se han trasladado también al campo de las nanopartículas poliméricas con la aprobación clínica de una formulación (Abraxane®) y otras que se encuentran en diversas fases de desarrollo clínico y considerar que éstos nanosistemas presentan ventajas frente a los liposomas ya que los polímeros son mas económicos que los lípidos y presentan una mayor versatilidad fundamentalmente en el aspecto multifuncional.

Si nos ceñimos más concretamente a los sistemas de liberación en los que la Nanomedicina ha adquirido o está adquiriendo una mayor relevancia tendríamos que señalar los que se recogen en la Figura 3. Dentro de estos sistemas son los liposomas, nanopartículas, vectores de ADN y dendrímeros los que se encuadran dentro del campo que constituye la nanotecnología farmacéutica y con los que se pretende conseguir las finalidades siguientes:

- ▶ Proteger al fármaco de su degradación, tanto física como química, aspecto esencial cuando se piensa en la utilización de los nuevos principios activos procedentes del área de la biotecnología.

- ▶ Incrementar la absorción de fármacos facilitando su difusión a través de los epitelios, aspecto de importancia relevante cuando se trata de buscar alternativas a la administración intravenosa de fármacos.

- ▶ Modificar las características farmacocinéticas de los fármacos y con ello su perfil de distribución a ciertos tejidos u órganos bien para incrementar su eficacia o disminuir efectos indeseables.

- ▶ Incrementar la penetración y distribución intracelular que son necesarios cuando la diana sobre la que va actuar el fármaco se encuentra en el interior de la célula.

- ▶ Mejorar las técnicas de imagen y diagnóstico in vivo.

Para hacer frente al reto de la Nanomedicina, la Tecnología Farmacéutica ha desarrollado sistemas nanométricos que contienen el principio activo, incluido en un vehículo o conjugado con un políme-



FIGURA 3. *Nanosistemas que actualmente presentan mayor relevancia en el campo de la Nanomedicina.*

ro, que lo transporta a través de las diferentes barreras biológicas del organismo lo cual no se podría realizar con los convencionales sistemas de liberación ya que en éstos son fundamentalmente las propiedades fisicoquímicas del principio activo las que condicionan su absorción y biodistribución.

La Nanotecnología Farmacéutica, como ciencia y tecnología de los sistemas nanoparticulares, presenta cada vez, sin olvidar su fuerte base fisicoquímica, un mayor componente biológico ya que en ella intervienen nuevos aspectos biofarmacéuticos y farmacocinéticos.

El comportamiento biofarmacéutico de los nanosistemas farmacéuticos presenta características específicas y diferentes de los principios activos que contienen. Tal como se recoge en la Figura 4 las macromoléculas, al ser inyectadas i.v. al organismo, pueden sufrir una degradación por la acción de enzimas específicos o bien, si van en vectores que las protegen, éstos pueden sufrir una agregación o adhesión a componentes plasmáticos. La biodistribución de las macromoléculas depende de la estructura de la pared de los capilares sanguíneos, condiciones fisiológicas o fisiopatológicas de los tejidos, aporte sanguíneo y linfático y propiedades fisicoquímicas del vector.

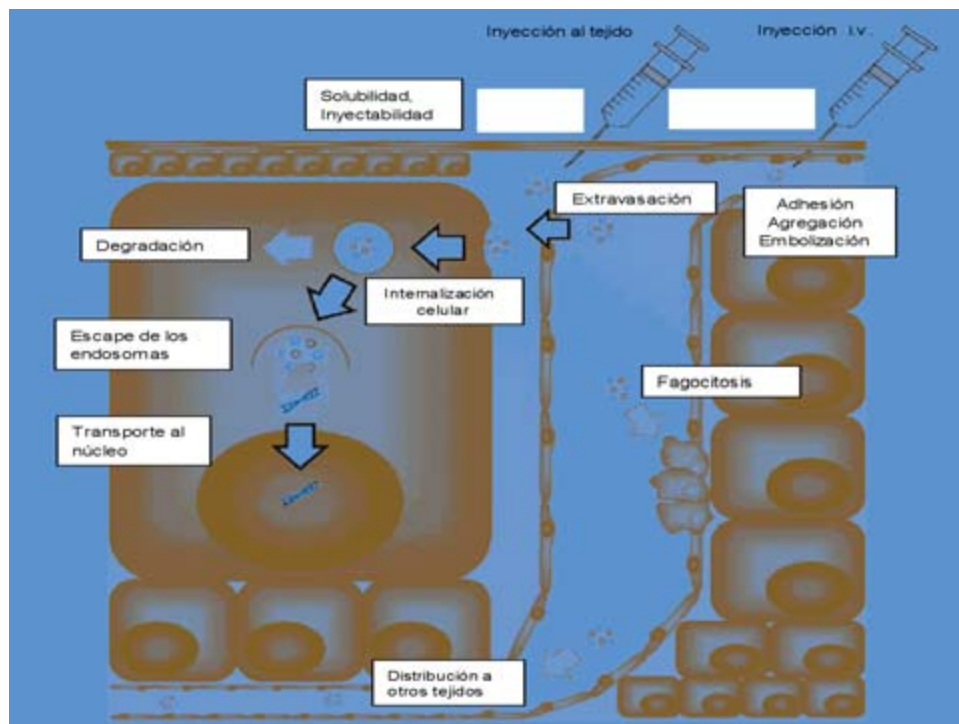


FIGURA 4. *Problemas biofarmacéuticos asociados a la administración de nanosistemas farmacéuticos.*

Los nanosistemas farmacéuticos pueden pasar a través de las uniones de las células endoteliales y, en ciertas situaciones patológicas como en los tejidos tumorales, infartados o inflamados, pueden acumularse en el espacio intersticial adyacente; este efecto se conoce con el nombre de incremento de la permeabilidad y retención (EPR effect) y su efectividad puede atribuirse a dos factores: por una parte la extravasación de macromoléculas o nanosistemas coloidales tiene lugar por una mayor permeabilidad de los vasos (el tamaño de los poros de los capilares se sitúa entre 200 nm y 1,2 mm) y menor flujo sanguíneo y, por otra parte, la retención tisular está condicionada por un menor drenaje linfático intersiticial y el tamaño del nanosistema (Figura 5).

Utilizando diferentes modelos de tumor la importancia del efecto EPR depende del tamaño y tipo de tumor. Los tumores pequeños muestran una mayor permeabilidad y, en consecuencia, una mayor

acumulación lo cual resulta ventajoso para erradicar micrometástasis que son difíciles de tratar utilizando una terapia convencional. Por otra parte los tumores altamente vascularizados, como por ejemplo el sarcoma de Kaposi, presentan una elevada vascularización y un mayor efecto de retención. Para aquellos tumores poco vascularizados en el exterior y con un rápido crecimiento de la masa tumoral, la inyección intratumoral de los nanosistemas presentan ventajas frente a la administración i.v.

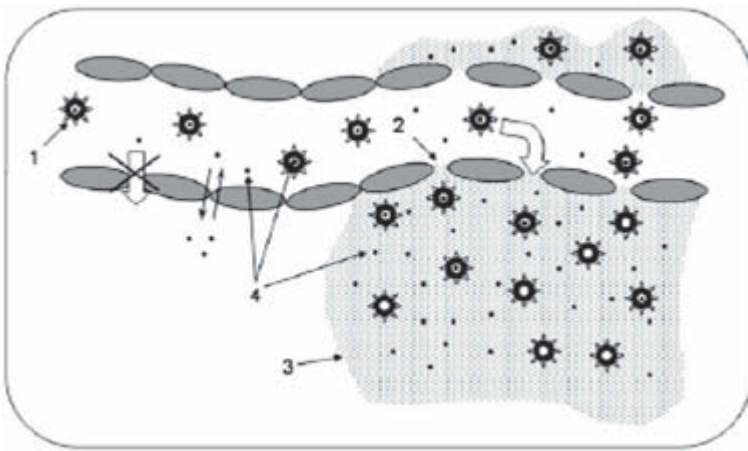


FIGURA 5. *Esquema del efecto incremento de permeabilidad-retención (EPR effect). Los nanovehículos que permanecen largo tiempo en la circulación (1) penetran a través de la pared endotelial (2) en el intersicio tumoral (3) y al degradarse, liberan el principio activo con lo que se alcanza elevadas concentraciones (4).*

Las interacciones con los biofluidos y el acceso al fluido intersticial constituyen las barreras extracelulares pero muchas macromoléculas tienen su diana en el interior de la célula como sucede con las terapéuticas basadas en el ADN.

La vectorización intracelular es deseable para aquellos casos en que la diana terapéutica se localiza en el interior de la célula bien en el citoplasma (oligonucleótidos antisentido, aptámeros, ribozimas, etc) o bien en el núcleo celular (plásmidos transgenes, siARN, oligonucleótidos). La internalización o paso de los nanosistemas a través

de la membrana celular es un complejo proceso de interacciones entre éstos y ciertos componentes de la membrana a través de los cuales se modifican señales celulares con lo que la internalización puede tener lugar por medio de una endocitosis o pinocitosis inespecífica en las que el sistema, fijado sobre la membrana celular, va liberando el fármaco o por endocitosis mediada por receptor la cual puede realizarse en los llamados hoyos recubiertos (coated pits), en los que se encuentra la proteína clatrina, proceso en el que se produce la invaginación de la membrana para formar endosomas que llevan en su superficie clatrina, o bien en los caveolos que son invaginaciones de la membrana tapizadas por una proteína especializada llamada caveolina. Utilizando sistemas poliméricos la endocitosis puede potencializarse en función de la carga del sistema o la presencia de restos hidrofóbicos; la primera promueve una interacción electrostática entre el sistema y la membrana (con carga negativa) o bien una interacción con los lípidos que forman parte de ésta. Una especial atención se está prestando a la interacción entre las membranas celulares y ciertos lípidos, denominados facilitadores como DOPE (dioleilfosfatidiletanolamina) y péptidos fusógenos como son los derivados del TAT (transactivator of transcription) del virus HIV, los conocidos como GALA o KALA, el péptido de 16 aminoácidos penetratina o la octaarginina. Aunque el mecanismo de penetración de éstos últimos no está bien aclarado es indudable que el conocimiento de estos procesos constituye un aspecto clave a la hora de diseñar un nanosistema que requiere su internalización celular.

Una vez que se ha formado el endosoma en el interior de la célula (Figura 6) éste puede dirigirse hacia el interior de la membrana biológica y salir posteriormente al exterior de la célula, por un mecanismo de exocitosis, o bien englobarse con lisosomas, vesículas englobadas por una membrana, que contienen un elevado número de enzimas capaces de inactivar muchas moléculas formándose un endolisosoma. Estos enzimas actúan a pH ácido para lo cual la membrana lisosomal contiene una bomba de protones que permite que el lisosoma tenga un pH inferior a 5 por lo que se debe asegurar la protección de proteínas/plásmidos de la acción de las nucleasas lisosomales. La rotura del endolisosoma permite que el nanosistema libere el principio, parte del cual puede degradarse y parte puede alcanzar sus dianas, bien a nivel del citosol o del núcleo.

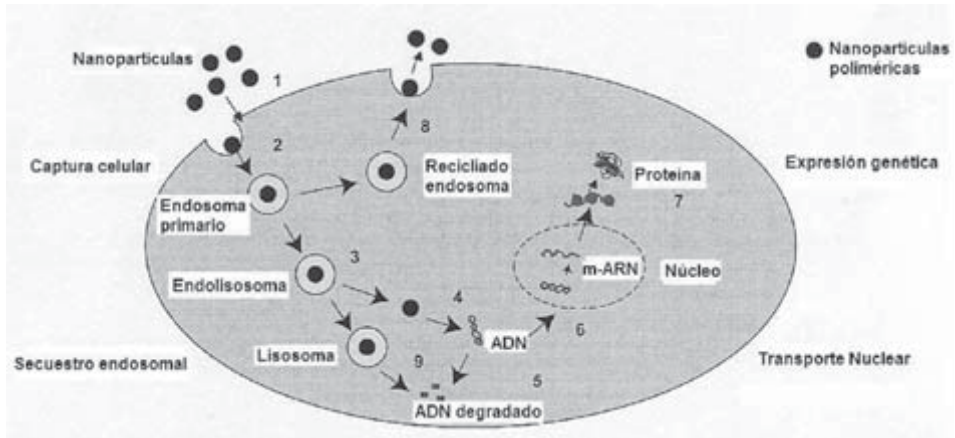


FIGURA 6. Representación esquemática de las etapas que tienen lugar durante el tráfico intracelular de fármacos incluidos en nanosistemas.

De todo lo expuesto se deduce que una condición importante para conseguir una efectiva liberación de un fármaco, que tenga su diana en el interior de la célula, es que el sistema que lo transporta lo proteja durante su permanencia en el endolisosoma y que rápidamente lo abandone. Un cierto número de vectores han sido explorados para una liberación específica intracelular y aunque su eficiencia de liberación sea alta son incapaces de mantener niveles terapéuticos por largo tiempo. Por ello el centro de atención actual es la obtención de sistemas que no solo protejan al fármaco de su degradación sino que, una vez que se encuentran en el citosol permitan una liberación controlada durante un largo tiempo.

Muchos de los recientes fármacos, fundamentalmente antineoplásicos, producen su acción sobre efectores genéticos de las células tumorales a través de una acción quelante o reticulación del ADN o bien interfiriendo su replicación, su transcripción o traslación por lo que la vectorización nuclear constituye el factor decisivo en este tipo de fármacos. El núcleo está rodeado de una doble membrana, constituida por fosfolípidos similares a los de la membrana celular, y presenta poros acuosos 10 veces mayores que los de la membrana plasmática los cuales permiten el paso de algunas macromoléculas (< 9 nm) solubles como ARN y algunas proteínas. Otras macromo-

léculas pueden pasar a través de la membrana nuclear por transporte activo por medio del complejo poro nuclear (CPN) constituido por proteínas denominadas porinas, que se caracterizan por la presencia de dominios constituidos por repeticiones múltiples de pequeñas secuencias de fenilalanina-glicina, que se disponen como una estructura anular en la membrana del núcleo, y cuya función está regulada por moléculas que se denominan señales de localización nuclear las cuales contienen aminoácidos catiónicos con restos que pueden ser fosforilados. Cuando éstas moléculas, conocidas como importinas, son activadas se asocian con CPN y por medio de la actividad GTPasa (GTP: guanosina trifosfato) el complejo es introducido en el núcleo. Desde el punto de vista tecnológico tiene interés la utilización, como promotor nuclear, de protamina de bajo peso molecular en base a la similitud con el péptido TAT 1 HIV; es por ello por lo que se realiza la complejación de la protamina con un plásmido ADN antes de proceder a la inclusión en un nanosistema.

Como ejemplos que destacan la importancia que tienen los nuevos aspectos biofarmacéuticos podemos señalar los siguientes:

► Poliláctico-poliglicólico: Constituyen un grupo de polímeros biodegradables y biocompatibles que han sido aprobados por la FDA para su utilización en forma de nanopartículas. Estos nanosistemas son obtenidos generalmente por un proceso de doble emulsificación w/o/w y evaporación del solvente empleando el alcohol polivinílico (PVA) como emulsificante.

Se ha demostrado que la internalización de estas nanopartículas es concentración y tiempo dependiente y tiene lugar parte por pinocitosis de fase fluida y parte a través de los hoyos de clatrina. El tamaño de partícula juega un papel fundamental ya que, con la misma composición, las nanopartículas < 100 nm muestran una transfección 27 veces mayor que las de tamaño > 100 nm. Son también de gran importancia factores como carga superficial, hidrofilia del polímero y proporción de PVA en el sistema. Una vez formado el endolisosoma se produce una protonización, por el pH ácido del medio, y modificación de la carga superficial de la nanopartícula lo que da lugar a la rotura de la membrana endolisosomal; por otra parte también se ha demostrado que una significativa fracción sufre un proceso de exocitosis el cual depende la proporción de alcohol

polivinílico (la exocitosis es menor cuando es baja la proporción de PVA), de su peso molecular y del grado de hidroxilación.

La lipofilia que presentan las nanopartículas a base éstos polímeros hace que in vivo se fijen rápidamente opsoninas y que sean identificadas por el sistema retículoendotelial. Por ello es por lo que se ha procedido a recubrir la superficie de las nanopartículas con los polímeros polietilenglicol y mas recientemente se ha propuesto la síntesis y utilización de copolímeros PLA-PLAG con polietilenglicol; éstos nuevos polímeros permiten que, a través de las cadenas de polietilenglicol se puedan unir otros componentes que permitan orientar el sistema hacia determinados tejidos.

Recientemente se ha revisado el papel de las cadenas de PEG y concluyéndose que éstas permiten que los nanosistemas (liposomas, nanopartículas) presenten una larga permanencia en la circulación pero disminuyen la interacción con las membranas celulares. La solución que se propone, para resolver éste dilema, consiste en emplear una cubierta lipídica (DOPE)-péptido-PEG sobre el vector. Las cadenas de PEG permiten que el sistema se mantenga en circulación durante un largo tiempo pero una vez que se acumula en el tejido tumoral la unión lípido-péptido es rota por la acción de metaloproteinasas liberadas al espacio extracelular por las células tumorales (Figura 7).

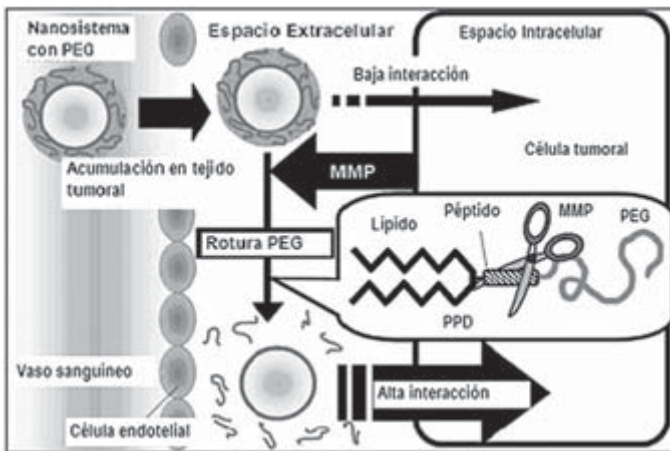


FIGURA 7. *Nanosistema recubierto con PEG cuyas cadenas se liberan a nivel del tejido tumoral que contiene metaloproteinasas.*

► Poloxamer: Son bien conocidas las interacciones que se pueden producir entre numerosos principios activos y los grupos carboxilo terminales de los polímeros poliláctico-glicólico así como el mayor número de ellos que se producen durante su proceso hidrolítico y que conducen a la formación de oligómeros y monómeros ácidos. Diversos autores han señalado que la encapsulación con excipientes protectores puede constituir una alternativa para disminuir la interacción entre fármaco y polímero así como neutralizar la acidificación del medio que tiene lugar durante su degradación. Entre las diversas alternativas destacan la inclusión de copolímeros bloque a base polioxietileno y polioxipropileno ya que aumentan de forma significativa la estabilidad y la eficiencia de encapsulación de diferentes proteínas.

En la Figura 8 se muestra que el plásmido ADN pEGFP (que codifica la proteína fluorescente verde), cuando se incluye en nanopartículas de poliláctico-glicólico:poloxamer L 121 en proporción 50:50, se encuentra en las dos formas biológicamente activas: superhelicoidal (aproximadamente en un 60%) y circular abierta (aproximadamente en un 40%). Durante el proceso de liberación de dos semanas se siguen observando las dos formas si bien se produce una conversión de la forma superhelicoidal a circular abierta. Este hecho demuestra que los copolímeros bloque mencionados previenen cambios estructurales del plásmido encapsulado que si se producen cuando se utilizan nanopartículas de poliláctico-glicólico.

Los poloxamer y poloxaminas han demostrado la capacidad de interaccionar con varias moléculas efectoras y activar la expresión de genes que son cruciales para inhibir el desarrollo del sistema

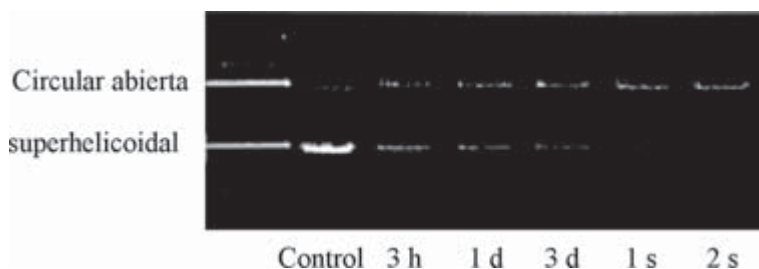


FIGURA 8. *Análisis estructural del plásmido ADN pEGFP liberado a diferentes tiempos a partir de nanopartículas PLGA: Pluronic L 121.*

conocido como resistencia múltiple a fármacos (MDR), que se desarrolla rápidamente en ciertos tipos de células tumorales, y puede considerarse como una modificación del fenotipo provocado por fármacos. En los tumores con fenotipo MDR sobreexpresado aparecen transportadores como la glicoproteína P (MDR1), resistencia múltiple a fármacos asociada a proteínas (MPR) y proteína de resistencia al cáncer de mama (BCRP) que pertenecen a una superfamilia de cassette de proteínas de unión a ATP las cuales dan lugar a bombas que transportan el fármaco al exterior de la célula reduciéndose la citotoxicidad. Al mismo tiempo el sistema de detoxificación glutatión/glutatión S-transferasa está activado y finalmente el fármaco también es englobado en vesículas endoplasmáticas que participan en su salida al exterior.

Tal como se muestra en la Figura 9 el empleo de los poloxamer inhibe la glicoproteína P y aumenta de forma importante la citotoxicidad de muchos antineoplásicos en células tumorales con elevada

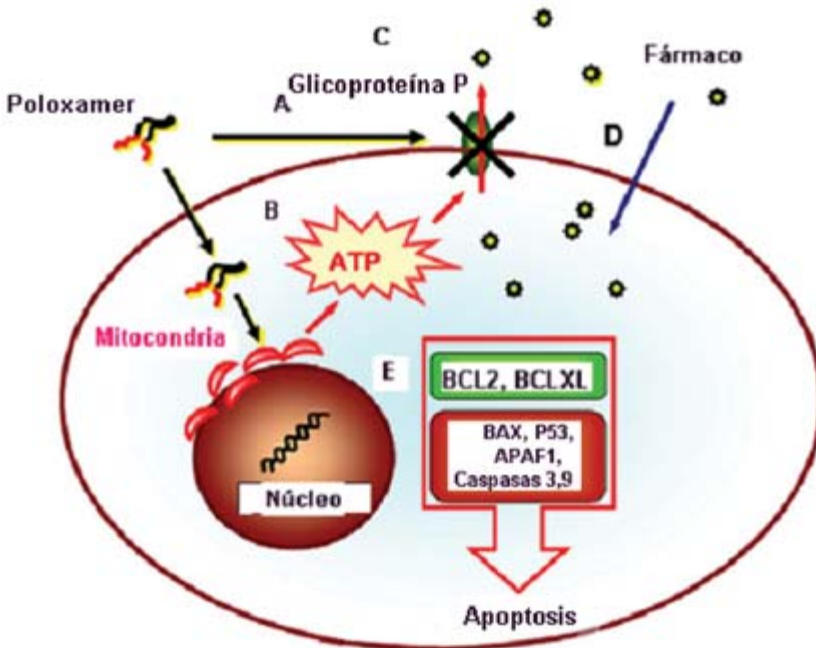


FIGURA 9. *Mecanismos de actuación de los poloxamer sobre las células tumorales con fenotipo MDR1 sobreexpresado.*

actividad MDR. Este efecto es múltiple ya que por una parte se disminuye la actividad de la glicoproteína ATP-asa, tiene lugar una depleción intracelular de ATP así como una inhibición del sistema glutatión-glutatión S-transferasa y la formación de vesículas endoplasmáticas.

Las dos dianas de actuación de los poloxamer son la membrana celular, en la que se localiza la glicoproteína P, y la membrana de la mitocondria en la que afecta a los transportadores de flujo del fármaco y cadena respiratoria. La capacidad de inhibir el sistema glicoproteína P-ATPasa de los poloxamer aumenta al incrementarse la longitud hidrofóbica de polioxipropileno de tal forma que la mayor actividad de estos copolímeros se presenta en aquellos que poseen una longitud intermedia de la cadena de polioxipropileno y una relativamente corta cadena de polioxietileno.

En cuanto a la cadena respiratoria ésta se ve fuertemente inhibida por los poloxamer en células MDR en comparación con células no MDR lo cual parece que está relacionado con el hecho de que las primeras utilizan los ácidos grasos como fuente de energía en lugar de glucosa. La selectividad que muestran los poloxamer sobre las células con fenotipo MRD1 sobreexpresado es único y constituye un buen ejemplo de cómo el MDR1 es un buen marcador farmacogenómico para determinar la efectividad de formulaciones poloxamer-fármaco; además ello ha reforzado los ensayos clínicos de formulaciones de doxorubicina-poloxamer en cáncer de esófago y otros que muestran una alta sobreexpresión de MDR1 y en los que frecuentemente se presentan rápidas resistencias.

Aunque las formulaciones de medicamentos incorporados a polímeros son empleadas para mejorar la liberación del principio activo sin embargo existen cada vez mas evidencias que los polímeros pueden también modificar señales de transducción intracelular e incrementar la eficacia terapéutica del principio activo. Ejemplo de ello son antineoplásicos fijados a polímeros o bien éstos incluidos en micelas poliméricas o nanopartículas; así la doxorubicina fijada al poloxamer Pluronic P 85 incrementa su actividad debido a que el polímero incrementa la expresión de genes proapoptóticos BAX, P53, APAF1, caspasa 9 y 3 mientras que la defensa celular antiapoptótica BCL2 está disminuida.

► **Polietilenglicoles:** La camptotecina fijada sobre polietilenglicoles incrementa su efecto citotóxico al estar considerablemente incrementadas las expresiones de los genes activadores de caspasas SMAC y APAF1 así como las caspasas 9 y 3; en éste caso también se encuentran sobreexpresados los genes ligados a la defensa celular BCL2 y BCL-XL pero esta inducción se desarrolla mas lentamente por lo que el resultado final es un incremento de la muerte celular. Igualmente micelas poliméricas de polietilenglicol-ácido poliglútmico conteniendo cisplatino muestran una actividad diferente sobre los genes que regulan el ciclo celular, apoptosis, detoxificación y reparación de ADN; concretamente las micelas poliméricas muestran una disminución en la expresión de los genes que codifican integrinas y metaloproteasas mientras que estos genes se encuentran sobreexpresados cuando se administra solo cisplatino. Este hecho tiene interés ya que las mencionadas micelas pueden reducir la invasión tumoral, metástasis y angiogénesis proporcionando beneficios terapéuticos adicionales.

► **Poliglutamatos:** Constituyen un reciente grupo de polímeros (Polyglumex) patentados por Cell Therapeutics. Uno de estos polímeros ha sido unido al paclitaxel (Xyotax®). Basándose en los resultados de estudios clínicos, realizados sobre mas de 1.200 pacientes con cáncer de pulmón no microcítico, se encuentra que los niveles plasmáticos de paclitaxel son 100 veces mas bajos cuando se utiliza Xyotax® que cuando se emplea el citostático actualmente comercializado; este único perfil puede ser el responsable de que no se produzca una pérdida de pelo y de la baja incidencia de la neutropenia severa que se observa en los estudios clínicos. Al mismo tiempo se encuentra un significativo incremento de la supervivencia y que ésta es mayor en mujeres lo cual parece deberse a la correlación existente entre niveles plasmáticos de estrógenos y un aumento en la expresión de catepsina B.

► **Polialquilcianoacrilatos:** Estos polímeros se utilizan para la preparación de nanocápsulas y nanopartículas que contienen fármacos de muy diversa naturaleza desde antineoplásicos hasta oligonucleótidos antisentido o plásmidos de ADN. De entre los diversos polímeros de éste grupo se ha seleccionado el poliisohexilcianoacrilato por su tolerancia, bloqueo de las bombas implicadas en la resistencia celular a antineoplásicos y alta captación por parte células tumo-

rales hepáticas. Actualmente se encuentran en investigación clínica nanopartículas de 100-300 nm de este polímero conteniendo doxorubicina (Transdrug®) con la indicación de tratamiento de hepatocarcinoma por administración intraarterial. La dosis inicial es de 10 mg/m², seguida, cada 4 semanas, de dosis de 20, 30 y 40 mg/m². La misma compañía BioAlliance Pharma (Francia) está desarrollando nanopartículas de este polímero conteniendo otros antineoplásicos como paclitaxel e irrinotecan.

Por último cabe señalar que el campo de la genómica de los polímeros ha comenzado a conocerse recientemente y afecta a polímeros no iónicos anfifílicos hidrosolubles así como a nanoestructuras (nanopartículas y micelas) que los contienen. Es importante señalar que dentro de estos polímeros se encuentran los polietilenglicoles y los copolímeros polióxido de etileno-polióxido de propileno que se consideran de la categoría GRAS (generally regarded as safe); sin embargo esta consideración debe tomarse con precaución cuando se mezclan o se conjugan covalentemente con agentes citotóxicos, derivados de ADN o antígenos ya que los polímeros pueden afectar drásticamente a las respuestas producidas por estos fármacos y que son genéticamente controladas. En algunos casos la actividad de estos polímeros puede tener efectos beneficiosos como por ejemplo en el caso de vacunas o superando la resistencia frente a citostáticos pero, en otros casos, puedan dar lugar a efectos secundarios insospechados y no deseados.

Tomando en consideración estos aspectos la EMEA recomienda que, desde las primeras etapas del desarrollo de nanomedicinas, los diferentes organismos (centros universitarios, centros de investigación o industrias) se pongan en contacto con la EMEA Innovation Task Force (<http://www.emea.eu.int/hums/human/itf/itfintro.htm>) y/o el Scientific Advice Procedure (<http://www.emea.eu.int/pdfs/human/sciadvise/426001en.pdf>). Igualmente el National Cancer Institute tiene asociado el Nanotechnology Characterization Laboratory (NCL) que realiza ensayos preclínicos de eficacia y toxicidad de nanopartículas para facilitar el paso de las estrategias nanotecnológicas a ensayos clínicos en el campo de la oncología (<http://ncl.ncifcrf.gov/wp/upload.asp>).

BIBLIOGRAFÍA

- (1) DOMB, A.J.; TABATA, Y.; RAVI KUMAR, M. N.V. Y FARBER, S. (2007) Nanoparticles for pharmaceutical applications. Ed.: American Scientific Publishers. Los Angeles.
- (2) CANCER NANOTECHNOLOGY PLAN: A STRATEGIC INITIATIVE TO TRANSFORM CLINICAL ONCOLOGY AND BASIC RESEARCH THROUGH THE DIRECT APPLICATION OF NANOTECHNOLOGY. (2004) U.S. Department of Health and Human Services. National Institutes of Health. Health National Cancer Institute.
- (3) EUROPEAN TECHNOLOGY PLATFORM: NANOMEDICINE. cordis.europa.eu/nanotechnology/nanomedicine.htm.
- (4) EUROPEAN MEDICINES AGENCY (2006) Reflection paper on nanotechnology-based medicinal products for human use.
- (5) UCHEGBU, I.F. (2006) Pharmaceutical nanotechnology: polymeric vesicles for drug and gene delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.* 3 (5): 629-640.
- (6) ZAMBONI, W.C. (2005) Liposomal, nanoparticles and conjugated formulations of anticancer agents. *Clin. Cancer Res.* 11 (23): 8230-8234.
- (7) TORCHILIN, V.P. (2007) Micellar nanocarriers: Pharmaceutical perspectives: *Pharm. Res.* 24 (1): 1-16.
- (8) HATAKEYAMA, H.; AKITA, H.; KOGURE, K.; OISHI, M.; NAGASAKI, Y.; KIHIRA, Y.; UENO, M.; KOBAYASHI, H.; KIKUCHI, H. AND HARASHIMA, H. (2007) Development of a novel system gene delivery system for cancer therapy with a tumor-specific cleavable PEG-lipid. *Gene Therapy.* 14: 68-77.
- (9) YIH, T.C. AND AL-FANDI, M. (2006) Engineered nanoparticles as precise drug delivery systems. *J. Cell. Biochem.* 97: 1184-1190.
- (10) CHENG, J.; TEPLY, B.A.; SHERIFI, I.; SUNG, J.; LUTHER, G.; GU, F.X.; LEVY-NISSENBAUM, E.; RADOVIS-MORENO, A.F.; LANGER, R. AND FAROKHZAD, O.C. (2007) Formulation of functionalized PLGA-PEG nanoparticles for in vivo targeted drug delivery. *Biomaterials.* 28: 869-876.
- (11) XION, X.B.; HUANG, Y.; LU, W.L.; ZHANG, X.; NAGAI, T. AND ZHANG, G. (2005) Intracellular delivery of doxorubicin with RGD modified sterically stabilized liposomes for an improved antitumor efficacy in vitro and in vivo. *J. Pharm. Sci.* 4: 1782-1793.
- (12) FAROKHZAD, O.C. AND LANGER, R. (2006) Nanomedicine: developing smarter therapeutic and diagnostic modalities. *Adv. Drug Del. Rev.* 58: 1456-1459.
- (13) NISHIYAMA, N. AND KATAOKA, K. (2006) Current state, achievements and future prospects of polymeric micelles as nanocarriers for drug and gene delivery. *Pharmacol. & Therapeutics.* 112: 630-648.
- (14) KABANOV, A.V. (2006) Polymer genomics: An insight into pharmacology and toxicology of nanomedicines. *Adv. Drug Del. Rev.* 58: 1597-1621.
- (15) AKHTAR, S. AND BENTER, I. (2007) Toxicogenomics of non-viral drug delivery systems for RNAi: Potential impact on siRNA-mediated gene silencing activity and specificity. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 59: 165-182.
- (16) COUVREUR, P. AND VAUTHIER, C. (2006) Nanotechnology: Intelligent design to treat complex disease. *Pharm. Res.* 23: 1417-1450.

- (17) VAN VLERKEN, L.E.; VYAS, T.K. AND AMIJI, M.M. (2007) Poly (ethylene glycol)-modified nanocarriers for tumor targeted and intracellular delivery. *Pharm. Res.* 24 (8): 1405-1414.
- (18) TORCHILIN, V.P. (2006) Multifunctional nanocarriers. *Adv. Drug Delivery Rev.* 58: 1532-1555.
- (19) VASIR, J.K.; REDDY, M.K. AND LABHASETWARD. (2005) Nanosystems in drug targeting: opportunities and challenges. *Current Nanoscience.* 1: 47-64.
- (20) TORCHILIN, V.P. (2007) Targeted pharmaceutical nanocarriers for cancer therapy and imaging. *The AAPS Journal.* 9 (2): E 128-E 147.