

Estrategias para la vectorización de fármacos mediante nanotecnología

M. Suñé-Pou¹, J.M. Suñé-Negre²

¹Estudiante predoctoral de la Facultad de Farmacia. Unidad de Tecnología Farmacéutica. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Barcelona. Instituto de Parasitología y Biomedicina López-Neyra. CSIC. Granada. ²Profesor titular de la Unidad de Tecnología Farmacéutica. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona

RESUMEN

El desarrollo de nanoestructuras (nanopartículas y nanocápsulas) es una de las líneas de investigación en que más esfuerzos se invierten en el ámbito de la farmacia galénica y la tecnología farmacéutica. Estos nanosistemas posibilitan la vectorización de fármacos a las células, o tejidos diana, permitiendo así una acción más específica y dirigida de las moléculas con actividad terapéutica. El uso de moléculas con afinidad para receptores específicos de membrana sobreexpresados en células tumorales, de anticuerpos monoclonales o de proteínas, entre otros, es frecuente para obtener tal finalidad. Además, estos sistemas permiten la vehiculización de los fármacos que potencialmente pueden ser el pilar de las terapias farmacológicas de muchas enfermedades de origen genético en un futuro: las biomoléculas.

Palabras clave: Nanopartículas, vectorización de fármacos, biomoléculas, cáncer.

ABSTRACT

Strategies for vectorising medical drugs using nanotechnology

The development of nanostructures (nanoparticles and nanocapsules) is one of the lines of research into which the most effort is being put in the field of pharmaceutical drugs and technology. These nanosystems make it possible to vectorise drugs to the target cells or tissues, so allowing more specific, targeted action by the therapeutically active molecules. The use of molecules with an affinity for specific overexpressed membrane receptors in tumour cells, monoclonal antibodies or proteins, among others, is common for this purpose. Moreover, these systems make it possible to deliver the drugs that might potentially be the basis for pharmacological treatment of many disorders of genetic origin in the future: biomolecules.

Keywords: Nanoparticles, vectorising drugs, biomolecules, cancer.

Introducción

La investigación farmacéutica actual está focalizada, en gran parte, en la vectorización de los fármacos. Actualmente, las enfermedades que ocasionan el mayor número de defunciones en nuestro país son, en su mayoría, de origen genético, como podrían ser los numerosos tipos de cáncer que existen, fruto de mutaciones en el ADN. Como resultado de ello, la necesidad de conseguir vectorizar el fármaco hacia los órganos, tejidos o células enfermas es una necesidad

médica que no está cubierta; de ser así, mejoraría los tratamientos farmacológicos actuales y aumentaría la supervivencia de muchas enfermedades incurables actualmente. La mayor parte de esta investigación se centra en el uso de la nanotecnología, con la formulación de nanopartículas o nanocápsulas, como base de formas farmacéuticas para vehiculizar los fármacos.

Muchos profesionales sanitarios confunden fácilmente los conceptos de nanopartículas (o nanoesferas) y nanocápsulas, pero son conceptos diferentes. En ambos sistemas, de tamaño entre 10 y 1.000 nm, el fármaco se puede encontrar unido a la superficie de la nanopartícula, encontrarse encapsulado en su inte-

Correspondencia:

M. Suñé-Pou.

Correo electrónico: msunepou@gmail.com

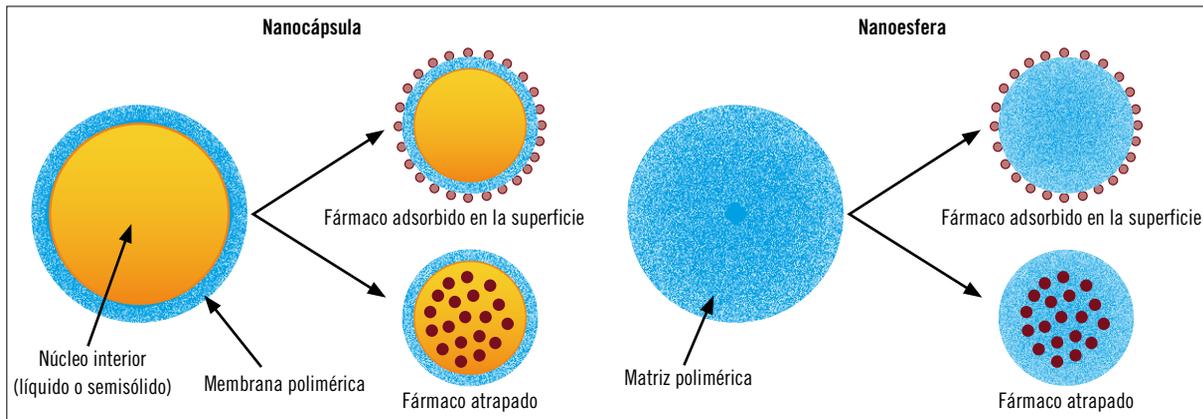


Figura 1. Tipos de nanoestructuras, que ponen de manifiesto sus diferencias. Basada en Gaharwar et al.¹

rior o formando parte de la matriz. Así pues, la diferencia no está en dónde se encuentra el fármaco, sino en la composición del nanosistema en sí. Por un lado, las nanopartículas son pequeñas partículas matriciales sólidas en las que el fármaco se puede encontrar atrapado en la red polimérica, disuelto en ella o adsorbido en su superficie (figura 1). Pueden ser nanoesferas lipídicas, un complejo polielectrolito o un nanogel. Por otro lado, las nanocápsulas se basan en un núcleo (*core*) líquido o semisólido envuelto por una membrana polimérica sólida (figura 1). El *core* puede ser oleoso (para encapsular fármacos lipofílicos) o acuoso (para encapsular fármacos hidrofílicos)¹. En ambos casos, en función de los componentes de la membrana polimérica o de la matriz, la partícula tendrá tendencia a dirigirse hacia un tejido u otro, a liberar el fármaco en un tiempo determinado, etc.

Pero ¿qué ventajas ofrecen estos nanosistemas? Es por todos sabido que, actualmente, los medicamentos comercializados con agentes quimioterápicos tienen poca especificidad para las células tumorales, y además presentan una toxicidad elevada. Estos dos hechos sumados comportan que la quimioterapia para tratar procesos cancerosos sea muy dura de soportar por parte del paciente, con un gran número de efectos adversos que influyen directamente en su calidad de vida. Así pues, encontrar un sistema que vehicule el fármaco antitumoral y lo libere específicamente en las células tumorales se ha convertido en uno de los objetivos más importantes de la investigación biomédica. Para conseguirlo, se intentarán apro-

vechar las características fisiopatológicas de los tumores.

Sistemas de vectorización de fármacos Vectorización basada en receptores de folato

El ácido fólico es una vitamina hidrosoluble (vitamina B₉) necesaria para la replicación del ADN. Su deficiencia dificulta la síntesis y la división celular, afectando sobre todo a las células de división rápida, como las de la médula ósea. Además, desempeña un papel especialmente importante durante el desarrollo embrionario y fetal, ya que su carencia puede dar lugar a malformaciones.

Para transportar el ácido fólico hacia su interior, la célula necesita un receptor específico de membrana, que en muchas células tumorales está sobreexpresado (de 100 a 300 veces), como en muchos cánceres de riñón, cerebro, mama o pulmón². Esta sobreexpresión puede ser aprovechada por los galénicos para fabricar nanopartículas que reconozcan específicamente las células tumorales, y así vectorizar el fármaco a este tipo celular específico. Por tanto, esta vectorización se consigue introduciendo ligandos de tipo folato en las membranas de las nanopartículas^{3,4}.

Vectorización basada en anticuerpos monoclonales

Una segunda estrategia muy utilizada e investigada se basa en los anticuerpos monoclonales. Estas proteínas son del tipo IgG, y contienen, como todo anticuerpo, dos regiones: un fragmento que reconoce específica-

mente a un antígeno (Fab) y un fragmento constante, fijador del complemento (Fc).

Cada tipo de tumor es fruto de una mutación o conjunto de mutaciones del material genético de las células, y esto conduce, en muchos casos, a la sobreexpresión o expresión anómala de algunas proteínas que pueden actuar como antígenos. Es el caso, por ejemplo, de HER2 en el cáncer de mama, o en el receptor del factor de crecimiento epidérmico en el linfoma. Producir anticuerpos específicos contra estos antígenos e incorporarlos en la superficie de los nanosistemas puede representar una estrategia puntera para la vectorización de fármacos, ya que se puede actuar muy específicamente en las células que sobreexpresen el antígeno. Aun así, el problema de este tipo de vectorización son las dificultades prácticas y los costes económicos que ocasionan, ya que el *scale up* y la producción de estos nanosistemas de forma industrial resulta casi imposible actualmente.

Por ello, gran parte de la investigación biomédica actual se orienta a la búsqueda de antígenos específicos de membrana expresados en ciertos tipos de cáncer, así como en el desarrollo de derivados químicos humanizados para disminuir la inmunogenicidad y el desarrollo de nuevas formulaciones y nanosistemas que incorporen los anticuerpos con técnicas consistentes, reproducibles y escalables a nivel industrial^{5,6}.

Vectorización basada en aptámeros

Los aptámeros (también denominados *chemical antibodies*) son macromoléculas que contienen una cadena única de ADN o ARN, capaces de reconocer de forma específica, estable y con alta afinidad varios tipos de moléculas diana, como proteínas de membrana. Entre sus ventajas, estos sistemas presentan un fácil aislamiento químico, una afinidad de unión selectiva, un tamaño pequeño y una ausencia de inmunogenicidad.

Además, los aptámeros se pueden modificar superficialmente mediante grupos funcionales para favorecer la conjugación con nanosistemas. Por tanto, constituyen un sistema de vectorización prometedor para la vectorización de fármacos y la diagnosis en terapia del cáncer^{7,8}.

Vectorización basada en dendrímeros

Los dendrímeros son macromoléculas tridimensionales de construcción arborescente monodispersas, con propiedades adecuadas para la encapsulación de fármacos a escala nanométrica. Su núcleo es hidrófobo y su superficie hidrofílica. El fármaco puede estar situado en el interior o el exterior de la nanocápsula, según la naturaleza del fármaco, los componentes del nanosistema y el método de fabricación.

En estos casos, el uso de polímeros poliamidoamina (PAMAM) es muy frecuente para conjugar agentes quimioterápicos. También se utiliza el isocianato de fluoresceína (PAMAM-FITC) conjugado con ligandos, como ácido fólico o biotina, para vehicular fármacos como el taxol a células tumorales⁹.

Además, los dendrímeros se emplean para otros fines, como la liberación controlada de policarpina por vía ocular¹⁰ o como vehículo en terapia génica.

Vectorización basada en integrinas

Las integrinas son una familia de receptores de adhesión celular que se unen a la matriz extracelular y a los ligandos de la superficie de la célula. Son proteínas que desempeñan un papel en el desarrollo del cáncer, concretamente en la angiogénesis y la metástasis. Por ejemplo, se sabe que la integrina $\alpha_v\beta_3$ desempeña un papel clave en la formación de nuevos vasos en tejidos con células tumorales. Al ser receptores para una variedad de proteínas de la matriz extracelular que contienen la secuencia arginina-glicina-aspártico (Arg-Gly-Asp), estas integrinas median la migración de las células a otros tejidos, su crecimiento y su supervivencia.

Este proceso natural en el cáncer puede utilizarse para vehicular fármacos mediante nanosistemas a las células tumorales, ya que la expresión de un péptido sintético con la secuencia Arg-Gly-Asp puede dirigir el nanosistema a la célula tumoral, e inhibir así el crecimiento del tumor y su proliferación¹¹.

Vectorización basada en el receptor del péptido intestinal vasoactivo (VIP)

El VIP es un neuropéptido de 28 aminoácidos glucagón-secretina ampliamente distribuido por el sistema nervioso central y periférico. Se ha descrito que los

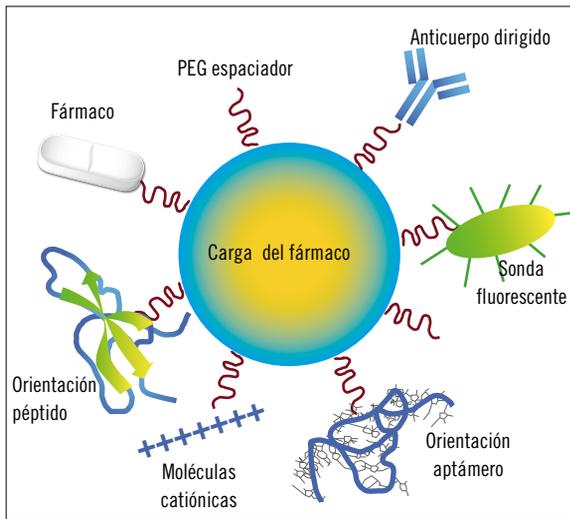


Figura 2. Diferentes ligandos o sistemas empleados para vectorizar la nanoestructura a las células o tejidos de interés. Tomada de Masserini¹³

receptores VIP están expresados 5 veces más en las células tumorales del cáncer de mama. Este hecho puede utilizarse para vehicular nanopartículas a dichas células tumorales. En algunas investigaciones, mediante estructuras con PEG + VIP + radionúcleos, se pudo producir la inhibición activa y pasiva del cáncer de mama en ratas. Aun así, la vectorización basada en VIP tiene una limitación importante: la dificultad para atravesar la barrera hematoencefálica, y la rápida eliminación y degradación de dicho sistema^{12,13} (figura 2).

Biomoléculas como agentes terapéuticos

Repasando las investigaciones actuales, se puede observar un nuevo paradigma en el campo de la farmacia ocasionado por el *boom* de los diferentes avances en el campo de la biología molecular. El descubrimiento hace poco más de 15 años del silenciamiento génico con los *small interference RNA* (siRNA) o el actual descubrimiento del sistema CRISPR-Cas9 como herramientas de modificación génica de las células, hace que se perciban estos sistemas como potenciales moléculas terapéuticas. Por ejemplo, si se tiene un gen concreto cuya expresión ocasiona en gran parte el desarrollo de un cáncer, con su silenciamiento se conseguiría revertirlo. Así pues, no es un disparate pensar que dentro de unos años las enfermedades de origen

genético sean tratadas con biomoléculas y no con fármacos de origen químico.

Pero ¿cómo se pueden vehicular dichas biomoléculas? Las formas farmacéuticas clásicas (comprimidos, cápsulas, soluciones, suspensiones o emulsiones) son ineficaces para administrar biomoléculas sin nada que las estabilice. En dichas formas farmacéuticas estas moléculas se degradan rápidamente.

En este campo es donde los nanosistemas explicados ejercen un importante papel. El uso, por ejemplo, de cSLN (*cationic solid lipid nanoparticles*) está muy extendido en investigación como sistema de transporte de dichas biomoléculas¹⁴⁻¹⁷.

Las cSLN son un tipo de nanopartículas cargadas positivamente en su membrana. Como el material genético está cargado negativamente, al ponerlo en contacto con las cSLN se establece una interacción iónica, y se forma lo que se denomina lipoplejo (figura 3)¹⁸. Estas nanopartículas, con la formulación correcta, pueden transfectar las células y liberar las biomoléculas anteriormente cargadas, para así conseguir, por ejemplo, el silenciamiento de un gen. Dichas cSLN pueden llegar a ser la base farmacéutica más empleada para la terapia génica, ya que su baja inmunogenicidad hace que sean vectores con más perspectivas de futuro que los vectores virales. Si bien es cierto que los vectores virales tienen una eficiencia de transfección mucho más elevada, sólo es cuestión de tiempo que los estudios llevados a cabo por múltiples grupos de investigación consigan desarrollar formulaciones de nanopartículas con una eficiencia de transfección suficientemente elevada para que sean una realidad terapéutica. Si además dichas biomoléculas se combinan con formulaciones capaces de reconocer un tipo determinado de células (p. ej., células tumorales), parece que el desarrollo de terapias efectivas para el cáncer puede ser una realidad dentro de unos años.

Nanosistemas en el mercado

Si bien es cierto que se está haciendo un gran esfuerzo en investigación, la tasa de éxito es relativamente baja. Por ejemplo, en 2014 se publicaron cerca de 60.000 artículos relacionados con nanopartículas y cáncer. En diciembre de ese mismo año se registraron 1.381 ensayos clínicos en ClinicalTrials.gov relaciona-

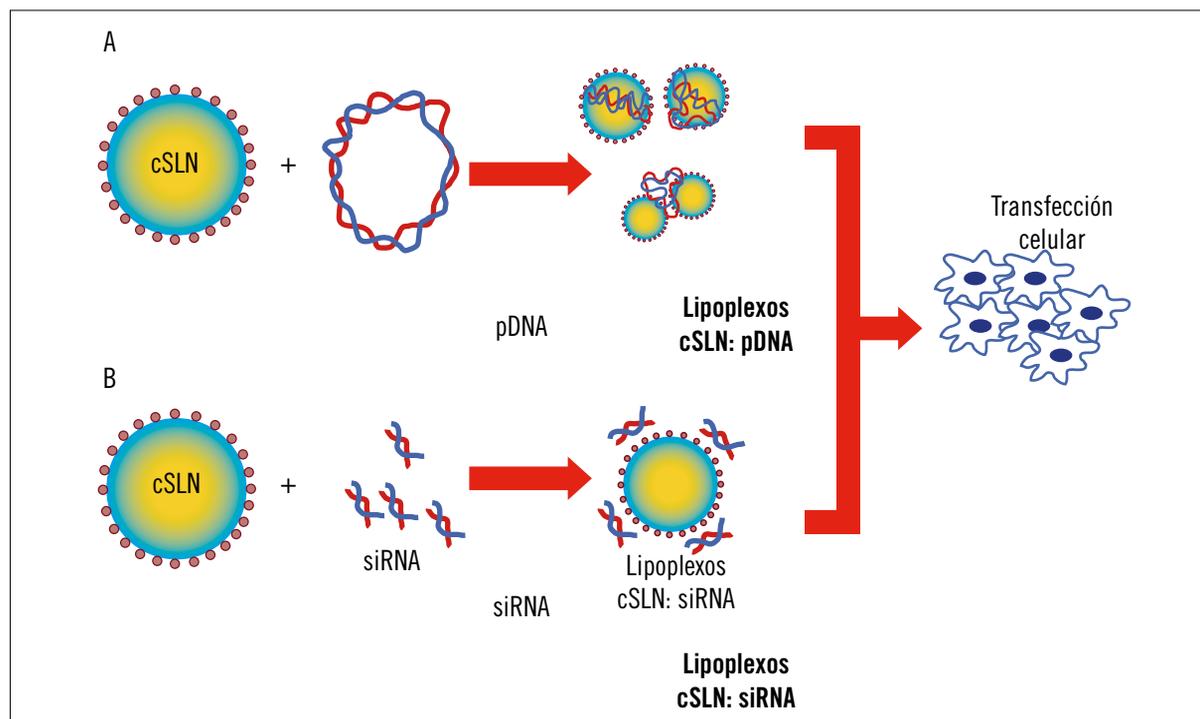


Figura 3. Esquema de la carga del pDNA/RNA a las cSLN y posterior transfección celular¹⁸

dos con la nanomedicina y el cáncer. Por tanto, los ensayos clínicos realizados representan cerca del 2% de los artículos publicados.

También se pueden encontrar en el mercado formulaciones a base de nanosistemas. Por ejemplo, el 6 de septiembre de 2013, la Food and Drug Administration (FDA) autorizó la comercialización de Abraxane®, una formulación de paclitaxel estabilizado en nanopartículas de albúmina, o de Doxil®, una inyección de liposomas de doxorubicina. Aun así, estas dos formulaciones no utilizan nanosistemas para vectorizar los fármacos a las células tumorales, sino que se emplean para mejorar las características fisicoquímicas (como en el caso de Abraxane®) o farmacocinéticas (como Doxil®) de los fármacos¹⁹⁻²¹.

Aun así, es evidente que falta invertir muchos recursos en la investigación biomédica para poder conseguir la vectorización de fármacos. Se publican constantemente centenares de artículos científicos al respecto, lo que demuestra que muchos grupos de investigación invierten esfuerzos para conseguir tal finalidad. Además, algunas formulaciones ya están en fases preclínicas y clínicas, aunque ninguna ha conseguido aún ser

comercializada. Poco a poco se avanza en el conocimiento de estos procesos, y la investigación farmacéutica y biomédica lucha para que este conocimiento se refleje en una mejor calidad de vida y supervivencia de nuestros *targets*: los pacientes. ■

Bibliografía

1. Gaharwar AK, Sant S, Hancock MJ, Hacking SA. *Nanomaterials in tissue engineering: fabrication and applications*, 1.ª ed. Woodhead Publishing Limited, 2013; 27-29.
2. Sudimack JBA, Lee RJ. Targeted drug delivery via the folate receptor. *Adv Drug Deliv Rev.* 2000; 41: 147-162.
3. Lu Y, Low PS. Folate-mediated delivery of macromolecular anticancer therapeutic agents. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002; 54: 675-697.
4. Pan J, Feng SS. Targeted delivery of paclitaxel using folated-decorated poly(lactide vitamine E) TPGS nanoparticles. *Biomaterials.* 2008; 29: 2.663-2.672.
5. Mehren MV, Adams GP, Weiner LM. Monoclonal antibody therapy for cancer. *Annu Rev Med.* 2003; 54: 343-369.
6. Kocbeck P, Oberjamer N, Cegnar M, Kos J, Kristl J. Targeting cancer cells using PLGA nanoparticles surface modified with monoclonal antibody. *J Control Release.* 2007; 120: 18-26.
7. Lee JF, Hesselberth JR, Meyers LA, Ellington AD. Aptamer database. *Nucleic Acids Res.* 2004; 32: 95-100.
8. Philips JA, López-Colon O, Zhu Z, Xu Y, Tan W. Applications of aptamers in cancer cell biology. *An Chim Acta.* 2008; 621: 101-108.

9. Yang W, Cheng Y, Xu T, Wang X, Wen L. Targeting cancer cells with biotin-dendrimer conjugates. *Eur J Med Chem.* 2008; 43: 1-7.
10. Vandamme TF, Brobeck L. Poly(amidoamine) dendrimers as ophthalmic vehicles for ocular delivery of pilocarpine nitrate and tropicamide. *J Control Release.* 2005; 102(1): 23-38.
11. Lim EH, Danthi TN, Bednarski M, Li K. A review: integrin $\alpha v \beta 3$ -targeted molecular imaging and therapy in angiogenesis. *Nanomedicine.* 2005; 1: 110-114.
12. Dufes C, Olivier J, Gaillard A, Cover W, Muller J. Brain delivery of vasoactive intestinal peptide (VIP) following nasal administration to rats. *Int J Pharm.* 2003; 255: 87-97.
13. Masserini M. Nanoparticles for brain drug delivery. *ISRN Biochem.* 2013; 2013: 238428.
14. Fàbregas A, Sánchez-Hernández N, Tico JR, García-Montoya E, Pérez-Lozano P, Suñé-Negre JM, et al. A new optimized formulation of cationic solid lipid nanoparticles intended for gene delivery: development, characterization and DNA binding efficiency of TCERG1 expression plasmid. *Int J Pharm.* 2014; 473: 270-279.
15. Carrillo C, Sánchez-Hernández N, García-Montoya E, Pérez-Lozano P, Suñé-Negre JM, Tico JR, et al. DNA delivery via cationic solid lipid nanoparticles (SLNs). *Eur J Pharm Sci.* 2013; 49: 157-165.
16. Fàbregas A, Prieto S, Suñé-Pou, Suñé-Negre JM, García-Montoya E, Pérez-Lozano P, et al. Transfection of cSLN: pDNA lipoplexes induces transient luciferase gene expression in HEK293T cell line. XI Spanish-Portuguese Conference on Controlled Drug Delivery "Revolutionary approaches in nanomedicines development". Granada, 21-23 de enero de 2016.
17. Suñé-Pou M, Fàbregas A, Prieto-Sánchez S, Nofrerías Roig I, Suñé-Negre JM, García-Montoya E, et al. Effect of matrix lipid composition of cSLN on particle size and Z potential. 10th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology. Glasgow, 4-7 de abril de 2016.
18. Fàbregas A. Nanopartícules lipídiques sòlides catióniques (cSLN) com a sistema d'elecció per a transfecció cel·lular de DNA/RNA [tesis doctoral]. Barcelona, 2015; 54.
19. Página web National Cancer Institute. Alliance for Nanotechnology in Cancer [consultado el 18 de febrero de 2016]. Disponible en: <http://nano.cancer.gov/learn/now/>
20. Página web Clinical Trials.gov [consultado el 18 de febrero de 2016]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/>
21. Wicki A, Witzigmann D, Balasubramanian V, Huwyler J. Nanomedicine in cancer therapy. Challenges, opportunities, and clinical applications. *J Control Release.* 2015; 200: 138-157.