



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**FORMULACIONES MICROBICIDAS EN LA
PREVENCIÓN DEL VIH**

Autor: Carlos Mansilla Morales

Tutor: Roberto Ruiz Caro

Convocatoria: Junio 2018

1. Resumen

El VIH representa uno de los principales problemas de salud a nivel mundial. Se estima que alrededor de 37 millones de personas padecen la patología, registrándose el mayor número de casos en el África subsahariana. Las mujeres constituyen uno de los grupos más vulnerables a ser infectados por el VIH por razones tanto biológicas como socioculturales. Por tanto, la necesidad de crear un producto cuya aplicación sea controlada exclusivamente por la mujer dio lugar a la aparición, en la década de los noventa, de formulaciones microbidas de aplicación vaginal frente al VIH.

En el presente trabajo, se han analizado y descrito las características más reseñables de las principales formulaciones microbidas para la prevención del VIH utilizando para ello, multitud de artículos disponibles en bases de datos científicas.

Las principales formulaciones vaginales estudiadas hasta la fecha se pueden englobar en cuatro formas farmacéuticas: geles, anillos, *films* y comprimidos. Recientemente, otras novedosas formulaciones, tales como las fibras electrohiladas y las nanopartículas vehiculizadas en formas farmacéuticas clásicas, han sido desarrolladas demostrando en los estudios disponibles ser prometedoras candidatas para prevenir el VIH en humanos.

La mayoría de las formulaciones, requieren actualmente de estudios adicionales para garantizar completamente su seguridad y eficacia en humanos, lo que hace de este campo un ámbito científico con un largo camino por recorrer.

2. Introducción y antecedentes

El VIH supone uno de los principales problemas de salud a nivel mundial. La OMS estimó que a finales de 2016 había un total de 36,7 millones de personas que padecían la enfermedad de los cuales 1 millón murió a causa de la patología o enfermedades asociadas. Sin embargo, estas cifras están desigualmente repartidas geográficamente siendo la región subsahariana de África la que alberga los datos más alarmantes ya que dos tercios del total de casos de SIDA a nivel mundial se encuentran en estos países.

Actualmente se cree que solamente el 70% de las personas infectadas conocen su estado serológico, y de los cuales solo un 55% aproximadamente recibe tratamiento antirretroviral. A pesar de ello, la creciente preocupación por esta enfermedad ha derivado en numerosos programas nacionales de lucha contra el SIDA que han logrado una reducción en un 39% del número de nuevas infecciones y una disminución de un tercio de la mortalidad asociada a la infección gracias a la terapia antirretroviral.[1]

El virus de la inmunodeficiencia humana es un retrovirus cuya principal característica es la capacidad de penetrar y destruir linfocitos T CD4+. Este virus pertenece a la subfamilia *Lentiviridae* y podemos distinguir dos tipos: el VIH-1 y el VIH-2. Aunque ambos comparten estructura, mecanismo de acción e idénticas vías de transmisión, la infección por VIH-2 evoluciona más lentamente y se considera menos patogénico y transmisible que el VIH-1.

La infección viral, comienza con la unión de la partícula viral a la célula hospedadora. Esta primera fase se basa en la unión de la glicoproteína extracelular gp120 a los receptores CD4 de los linfocitos T. Este proceso desencadena la unión de otras proteínas presentes en la célula huésped denominadas correceptores (CCR5 o CXCR4) que permiten que ambas superficies se fusionen y el virus libere su material genético en el interior de la célula hospedadora. Una vez en el interior celular, el ARN viral es transformado en ADN mediante la acción de una enzima viral denominada transcriptasa inversa y posteriormente integrado en el genoma de la célula hospedadora mediante la acción de la enzima integrasa donde puede permanecer en estado de latencia durante largos periodos de tiempo. Posteriormente, será la polimerasa celular la encargada de transcribir el ADN produciéndose un ARNm que migra al citoplasma donde es utilizado para sintetizar nuevas proteínas virales, algunas de las cuales necesitan un procesamiento previo llevado a cabo por una enzima denominada proteasa. Estas proteínas virales junto con el ARN producido, migran a la superficie celular y se ensamblan constituyendo un VIH inmaduro o virión. Finalmente en la fase de gemación el virión, sale de la célula hospedadora arrastrando consigo parte de la membrana celular. Así, tras un proceso de maduración, el virus podrá infectar nuevas células.[2]

La infección por VIH está constituida fundamentalmente por tres fases clínicas: Una primera fase conocida como fase aguda, caracterizada por una rápida multiplicación y diseminación del virus en el organismo. Suele presentarse entre 2 y 4 semanas después de la infección y habitualmente suele cursar con una sintomatología similar a la gripal. Tras esta, sobreviene la fase crónica, asintomática o de latencia clínica. Durante la misma, el virus se multiplica de una forma lenta en el organismo y no suele presentarse sintomatología alguna. Suele tener una duración variable pudiendo extenderse hasta más de 10 años. La fase más severa de la infección por VIH se conoce como síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). En este estadio el sistema inmune se encuentra severamente dañado con un recuento de células CD4 inferior a 200 células/mm³. La severa inmunosupresión de esta fase, es responsable de la aparición de infecciones oportunistas tales como toxoplasmosis, sarcoma de Kaposi, neumonías, herpes o enteropatías.[3]

Actualmente, no existe ningún tipo de tratamiento farmacológico capaz de erradicar el VIH en personas infectadas. Los medicamentos actualmente aprobados para el tratamiento del virus (descritos en la siguiente tabla), permiten minimizar la carga viral permitiéndose así una recuperación del sistema inmunitario y disminuir el riesgo de transmisión del VIH.

Mecanismo de acción	Fármacos (autorizados por la FDA)
Inhibidores de la fusión	Efuvirtida
Antagonistas CCR5	Maraviroc
Inhibidores post-fijación	Ibalizumab
Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos nucleosídicos (ITIAN)	Zidovudina, didanosina, estavudina, lamibudina, emtricitabina, tenofovir y abacavir
Inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleosídicos (ITINN)	Nevirapina, efavirenz, etravirina, dapivirina y rilpivirina
Inhibidores de la proteasa (IP)	Arazanavir, darunavir, Lopinavir, fosemprenavir, saquinavir y tipranavir
Inhibidores de la integrasa (INI)	Raltegravir, elvitegravir y dolutegravir
Intensificadores farmacocinéticos	Colbicistat y ritonavir

La terapia antirretroviral (TAR) comprende la combinación de 3 fármacos pertenecientes a dos o más familias. Actualmente las combinaciones recomendadas para la TAR inicial, incluyen las siguientes asociaciones de fármacos: 2 ITIAN+1 INI, 2 ITIAN+1 ITINN o 2 ITIAN+1 IP (potenciado con colbicistat). La aparición de efectos secundarios severos, posibles interacciones con otros medicamentos, resistencia del virus a diferentes fármacos y situaciones especiales como el embarazo y la presencia de comorbilidades, son factores determinantes a la hora de escoger o aplicar cambios en la terapia antirretroviral.[4,5]

La OMS estima que más del 50% de las personas infectadas actualmente por el VIH son mujeres, siendo el sexo más susceptible a ser infectado debido a factores biológicos (al presentar múltiples células diana para el VIH en el endocervix) y socioculturales, como la violencia sexual a la que son sometidas especialmente en países subdesarrollados y/o la falta de autoridad de las mismas para negociar con sus parejas el uso de preservativos o exigirles fidelidad. Estos factores, hacen que exista una creciente necesidad de desarrollar un método de prevención del VIH única y exclusivamente controlado por la mujer.[6]

3.Objetivos

El objetivo primordial del trabajo consiste en analizar las formulaciones microbidas de administración vaginal más reseñables desarrolladas a lo largo de la historia con la finalidad de describir sus características farmacológicas y biofarmacéuticas principales, ventajas e inconvenientes, estado actual de las mismas y poner de manifiesto el gran avance que supone el desarrollo de un método de prevención del VIH controlado única y exclusivamente por la mujer.

4. Material y métodos

Para la realización del trabajo, se ha hecho una extensa revisión bibliográfica de artículos y resúmenes científicos recogidos en las principales bases de datos de información biomédica. La metodología utilizada se basa en el análisis y descripción de las formulaciones vaginales que han sido desarrolladas para prevenir el VIH, englobando desde las más antiguas y sencillas hasta las más novedosas y complejas.

5. Resultados y discusión

Un microbida podría definirse como cualquier agente incluido en una formulación tópica destinado a la prevención de la infección por cualquier patógeno de transmisión sexual a través de diversos mecanismos.[7]

El microbida de aplicación vaginal ideal, debe ser formulado con sustancias mucoadhesivas que permitan una retención suficiente en la mucosa vaginal para garantizar la liberación del principio activo homogéneamente en los tejidos sin causar irritación vaginal, metabolizarse adecuadamente para dar lugar a metabolitos activos (en el caso de que fuese necesario) y producir concentraciones suficientes de fármaco para otorgar protección frente al VIH. Además, la absorción sistémica ha de ser mínima, garantizándose así pocos efectos secundarios y disminuyendo la probabilidad del virus de desarrollar resistencia si se produce la infección (en formulaciones que incluyen fármacos antirretrovirales). Así mismo, un microbida debe ser fácil de usar y tener una buena aceptación por parte de la población femenina. A continuación, se describen detalladamente diversas formulaciones microbidas de administración vaginal agrupadas según la forma farmacéutica.[8]

-Geles vaginales

La mayor parte de estas formulaciones son hidrogeles, por lo que el activo microbida ha de ser estable en medio acuoso (fluido vaginal). Generalmente, estos hidrogeles suelen presentar una retención deficiente en la mucosa vaginal, han de ser introducidos en la vagina por medio de un aplicador y suelen requerir de una aplicación frecuente ya que liberan el principio

activo de forma rápida. Sin embargo, son formas farmacéuticas relativamente fáciles de elaborar desde un punto de vista tecnológico y económico.[8]

Los primeros geles vaginales estudiados en la prevención del VIH, fueron aquellos que contenían como sustancia activa compuestos denominados surfactantes. Estos, actúan como virucidas, disminuyendo la tensión superficial del patógeno desencadenando una alteración en la membrana del virus e induciendo la muerte del mismo antes de que el microorganismo entre en contacto con la mucosa vaginal.

La primera formulación microbicida estudiada fue el gel del surfactante nonoxindol-9 (N-9). Los primeros estudios realizados revelaron tanto la existencia de actividad microbicida frente a diversos genotipos de VIH *in vitro*, como una reducción en la adquisición del VIH en macacos tras la administración vaginal del gel. A pesar de su actividad *in vitro* e *in vivo* en animales, diversos ensayos clínicos realizados en mujeres sanas revelaron que no solamente el N-9 carecía de actividad en la prevención del VIH, sino que este compuesto incrementó la transmisión del VIH en el grupo en el que se aplicó el gel debido a que el N-9 produce alteraciones vaginales que facilitan la adquisición de la infección.[9]

Posteriormente, fue desarrollada una nueva formulación microbicida, Savvy gel[®]. Este gel contiene como sustancia activa un agente surfactante denominado C31G al 1% que contiene una mezcla equimolar de dimetilglicina y óxido de dimetilamina. Comparativamente, resultó ser menos citotóxico que el N-9. Sin embargo, no solo no se demostró eficacia del mismo en la prevención del VIH, sino que además la incidencia de VIH en el grupo experimental fue mayor que en el grupo control.[10]

Otro grupo de sustancias que se utilizaron para la formulación de candidatos microbicidas para la prevención del VIH fueron los polianiones. Este grupo de sustancias se caracterizan por la alta presencia de cargas negativas en su estructura, capaces de interactuar con las cargas positivas de la gp120 viral, mediante la cual, el patógeno se une a los receptores CD4 bloqueando así la entrada del virus en las células.[7]

Uno de los primeros representantes de este segundo grupo fue el gel PRO 2000[®]. Se trata de una formulación cuya sustancia activa es un polímero sintético de naftaleno sulfonato.[7] Este gel mostró eficacia contra el VIH *in vitro* y logró reducir significativamente la transmisión del virus en macacos. Sin embargo, un ensayo clínico de fase III llevado a cabo en diferentes puntos de África, donde se pretendía evaluar la eficacia y seguridad de geles PRO 2000[®] al

0,5 y 2%, concluyó, que a pesar de su seguridad, este gel a ambas concentraciones fue completamente inefectivo en la prevención del VIH en mujeres sanas.[11]

VivaGel™ fue otro gel candidato que contiene como sustancia activa el polianión SPL7013 al 3% (dendrímico obtenido mediante nanotecnología). Carbopol® 971P fue utilizado para formular el gel por sus propiedades mucoadhesivas, su seguridad y porque además ha demostrado ser parcialmente eficaz contra el virus del herpes simple en ratones y el VIH-1 *in vitro*. [12] De este modo, esta formulación demostró actividad microbicida *in vitro* y buena eficacia y tolerancia en animales y humanos. Sin embargo, estudios posteriores determinaron que el uso continuado de VivaGel™ genera un incremento significativo de inflamación y daño epitelial, lo cual pone en cuestión la seguridad del fármaco a largo plazo.[13]

Carraguard® fue desarrollada como una formulación microbicida para la prevención de diversas ETS. La sustancia activa del gel es una mezcla de λ y κ carragenano obtenidos de algas marinas,[14] los cuales se cree que actúan por un mecanismo similar a los polianiones anteriores. La formulación demostró ser efectiva *in vitro* y en animales. Sin embargo, un estudio de fase III realizado en Sudáfrica reveló falta de eficacia del fármaco en la prevención del VIH. A pesar de ser inefectivo, Carraguard® resultó ser seguro y con buenas propiedades reológicas, por lo que actualmente se está barajando la posibilidad de utilizarlo como vehículo de otros activos para formular diversos sistemas microbicidas contra el VIH.[8]

El sulfato de celulosa, es otro compuesto polianiónico que se propuso para la prevención del VIH. La sustancia activa se utilizó para la formulación de un gel vaginal denominado Ushercell® que fue estudiada en humanos. Esta formulación que parecía ser segura, bien tolerada y aceptada por los participantes de los primeros estudios, desafortunadamente no proporcionó evidencias suficientes de que impidiese la transmisión del VIH en ensayos clínicos de fase III. Es más, se concluyó que la formulación producía una alteración de la barrera epitelial vaginal aumentando el riesgo de infección por el virus, explicándose así, el elevado número de seroconversiones que se produjeron en el grupo experimental.[15]

Es importante reseñar que los polianiones tienen una mayor capacidad de unión a aquellos virus del VIH CXCR4 trópicos frente a los que utilizan CCR5 como correceptor. La posible explicación de este hecho podría deberse a una mayor presencia de cargas positivas en la gp120 en aquellos que utilizan el CXCR4 respecto a los que utilizan CCR5, siendo por tanto, la potencia microbicida notablemente más baja en este último caso.[16] También, se ha demostrado experimentalmente que los compuestos polianiónicos son capaces de promover la formación de fibrillas amiloides en presencia de semen, las cuales podrían potenciar

drásticamente la infección por VIH. Esto, aunque no es extrapolable a todos los compuestos polianiónicos, junto con el hecho descrito anteriormente, podría explicar el fracaso de estos compuestos en ensayos clínicos.[17]

BufferGel[®] es una formulación espermicida y microbicida que limita el aumento del pH vaginal inducido por el semen. Su actividad reside en la presencia de Carbopol[®] 974P que actúa como agente gelificante y tampón manteniendo la acidez vaginal normal en presencia del semen eyaculado.[18] Se postuló que esta sustancia podría prevenir la adquisición del VIH por dos mecanismos: directamente destruyendo o neutralizando el virus o bien inactivando bacterias asociadas a vaginosis bacteriana que puedan facilitar la adquisición de la infección al mantener el pH vaginal por debajo de 5. Si bien los resultados de los ensayos clínicos mostraron una alta seguridad de la formulación, ensayos clínicos de fase II/IIb han demostrado que la formulación carece de efecto sobre las bacterias causantes de vaginosis bacteriana y tampoco parece interferir en la transmisión del VIH.[19]

La cianovirina-N (CV-N) es una lectina aislada originalmente de la cianobacteria *Nostoc elliposporum*. Se trata de una lecitina capaz de inactivar irreversiblemente diversas cepas de VIH. Su diana farmacológica parece ser la gp120 del virus. Sin embargo, el mecanismo de acción mediante el cual previene la infección celular parece ser más complejo que en el caso de los polianiones, ya que la unión de la molécula a su diana no bloquea la unión de la gp al receptor CD4, sino que actúa en una etapa posterior a la unión al receptor celular pero previa a completarse la fusión y entrada viral.[20]

Estudios clínicos llevados a cabo en macacos demostraron que el gel de CV-N en concentraciones al 1 y 2% es capaz de prevenir exitosamente la adquisición del VIH tras su aplicación tanto rectal como vaginal,[21] además de mostrar seguridad y eficacia en modelos *ex vivo* de tejido cervical.[22] Los resultados positivos obtenidos hasta la fecha han promovido una mayor evaluación preclínica de la formulación, así como la búsqueda de fuentes como las semillas de soja para la producción de CV-N a gran escala y bajo coste.[23]

Grifitsina es otra lectina aislada del alga roja *Griffithsia* sp. estudiada en la prevención del VIH ya que actúa del mismo modo que la CV-N. Este compuesto ha demostrado prevenir exitosamente la infección por VIH *in vitro* a concentraciones picomolares y ha mostrado carecer de actividad citotóxica y mitogénica en explantes cervicales.[24] A pesar de la necesidad de una mayor cantidad de ensayos para evaluar su seguridad y eficacia, la molécula ha demostrado que, sola o en combinación, podría ser una prometedora candidata para el desarrollo de formulaciones microbidas frente al VIH.[25]

Los geles que incluyen sustancias antirretrovirales constituyen un grupo de prometedoras formulaciones de aplicación vaginal con evidencias científicas de protección frente a la adquisición de la infección.[8] Así, con el fin de evaluar la seguridad de un gel con tenofovir (TFV), se llevó a cabo un primer estudio clínico de fase I en mujeres sanas. Los resultados del mismo concluyeron que el gel al 0,3 y 1% resultó ser seguro y bien tolerado. Posteriormente, se llevó a cabo un estudio de fase III bajo el nombre de CAPRISA 004 observándose una reducción del 39% en la adquisición del virus en las mujeres que utilizaron este gel. Sin embargo, el ensayo resalta la importancia de la adherencia al tratamiento, ya que en aquellas mujeres con una adherencia superior al 80% los resultados fueron mucho más prometedores con un 54% de protección frente al virus.[26]

A pesar de los buenos resultados obtenidos en el estudio anterior, otros ensayos clínicos de fase III tales como VOICE, MTN003 o FACTS 003 fracasaron completamente.[26] La falta de éxito de estos últimos estudios está claramente asociada a una baja adherencia al tratamiento por parte del grupo experimental. La necesidad de aplicar varias veces el gel, así como el gran volumen de gel aplicado necesario (4mL), podrían haber contribuido a la pobre adherencia al tratamiento. Por tanto, reduciendo el volumen de gel y utilizando regímenes de dosificación más cómodos, se podría incrementar la adherencia al tratamiento y, consecuentemente, el éxito en la prevención de la infección.[27]

La dapivirina (DPV), es otro fármaco antirretroviral incluido en un hidrogel y estudiado como microbicida en la prevención del VIH. En concentraciones al 1% la formulación resultó ser segura y bien tolerada, aunque su efectividad en humanos aún no se ha demostrado.[28]

Actualmente, se baraja la posibilidad de combinar fármacos antirretrovirales con la finalidad de formular un gel que ejerza una mayor protección frente al virus. Estas combinaciones, actualmente en investigación, incluyen la asociación de TFV con otros fármacos antirretrovirales tales como emtricitabina o DPV, así como la combinación del mismo con inhibidores de la activación de la inmunidad innata.[8]

Con el fin de desarrollar una formulación microbicida de aplicación vaginal, el potente antagonista de receptores CCR5, maraviroc (MVC), se formuló en forma de gel de hidroxietilcelulosa (HEC). A concentraciones del 3% del principio activo, el gel reveló una protección completa en macacos cuando estos fueron expuestos al virus ya que las concentraciones obtenidas en fluido y tejido vaginal fueron lo suficientemente altas como para garantizar protección frente a la infección.[29]

Sin embargo, los resultados clínicos observados en la mayoría de los geles han sido poco alentadores debido a una retención deficiente en la mucosa vaginal, lo que requiere que la aplicación del microbicida sea dependiente completamente de la relación sexual, dando lugar a una pobre adherencia en la mayoría de los ensayos clínicos. Con la finalidad de paliar las desventajas anteriores, se formuló MVC en un gel hidrófobo de elastómero de silicona. La formulación resultó ser segura *in vivo* en macacos y se obtuvieron concentraciones de MVC más altas y sostenidas en flujo y tejido vaginal en comparación con el uso de un gel de HEC que contiene la misma cantidad de sustancia activa. A pesar de que todavía son necesarios datos de seguridad en humanos, estos geles no acuosos podrían suponer un punto de inflexión para la formulación de geles microbicidas de aplicación vaginal completamente independientes del coito.[30]

Las nanopartículas (NPs) son estructuras constituidas por fibras poliméricas entrecruzadas, y si están constituidas por polímeros mucoadhesivos, son capaces de regular la cesión de sustancias activas previamente cargadas en su matriz. Estas estructuras, a pesar de tener *in vitro* buenos perfiles farmacocinéticos, presentan tiempos de retención en la mucosa vaginal deficientes si no son incorporadas en el vehículo adecuado. Un ejemplo de lo anterior son las NPs de PEO-PCL cargadas con DPV. Si bien, estas estructuras mostraron buenos perfiles farmacocinéticos *in vitro*, con tiempos de hasta 24 horas de cesión sostenida del principio activo, así como buenas características de seguridad, los ensayos *in vivo* en modelos murinos fracasaron completamente debido a una elevada fuga de partículas de la mucosa vaginal (hasta un 90% de pérdida en las primeras 6 horas del ensayo). Estos resultados deficientes fueron fruto de la elección de una solución como vehículo de las nanopartículas, por lo que se postuló que los tiempos de retención podrían incrementarse incluyendo NPs en vehículos semisólidos como geles o sólidos como *films* vaginales o comprimidos.

La incorporación de nanopartículas en hidrogeles se ha investigado ampliamente. Las NPs de PLGA cargadas con rilpivirina, fueron introducidas en un gel termosensible de poloxámero. Este gel otorgó en estudios *in vivo*, una protección de hasta 24 horas frente al virus con tiempos de retención vaginal de la formulación superiores a la misma. Por tanto, estas formulaciones únicamente requieren de una aplicación diaria del gel de forma totalmente independiente del coito, suponiendo un gran avance tecnológico en cuanto a geles microbicidas vaginales, que en general, suelen requerir ser aplicados numerosas veces al día y de forma totalmente dependiente de la relación sexual, lo que dado lugar a una pobre adherencia y, por ello, al fracaso de numerosos ensayos clínicos.[31]

-Anillos vaginales (IVRs)

Se trata de dispositivos similares a los que actualmente se utilizan en la terapia anticonceptiva y de reemplazamiento hormonal. Dichos dispositivos han de estar formulados de tal manera que proporcionen una liberación prolongada, predecible y sostenida de un componente activo en todo el compartimento vaginal.[8]

Al proporcionar una liberación sostenida del principio activo durante un periodo de tiempo relativamente largo, los IVRs se pueden usar de manera completamente independiente del coito y solamente es necesario insertarlos en la vagina mensualmente. Esto permite solventar uno de los principales problemas asociados tanto a la profilaxis preexposición oral como a los geles microbicidas de administración vaginal, es decir, la falta de adherencia a los regímenes de dosificación. Así mismo, suelen ser relativamente fáciles de insertar, pueden contener sustancias activas que no sean estables en solución acuosa y existe baja posibilidad de pérdida. Sin embargo, pueden resultar incómodos o difíciles de poner para algunas usuarias y tienen un mayor coste económico.[8]

Teniendo en cuenta los buenos resultados obtenidos en el estudio CAPRISA 004 y con la finalidad de desarrollar un producto que libere el fármaco de forma sostenida, se desarrollaron IVRs cargados con TFV. Estos IVRs demostraron en estudios *in vivo* en animales, que a parte de poseer un buen perfil de seguridad, han sido capaces de proporcionar concentraciones vaginales superiores a los que demostraron ejercer protección frente al VIH durante más de 24 días en el caso del IVR de silicona y hasta 90 días en el caso del IVR de poliuretano.[32]

Posteriormente, fue desarrollado un IVR de poliuretano para controlar la liberación del tenofovir disoproxil fumarato (TDF). En un estudio realizado en primates, con el fin de evaluar la farmacocinética, seguridad y eficacia del anillo, este fue capaz de generar concentraciones vaginales de fármaco superiores a las necesarias para una protección de la infección.[33] Estos prometedores resultados fueron confirmados tiempo después en un estudio de fase I en humanos.[34]

La DPV ha sido otra sustancia antirretroviral que se ha incluido en un IVR. Cuatro estudios de fase I realizados en Europa corroboraron unos perfiles farmacocinéticos y de seguridad favorables para su uso en la prevención del VIH-1.[35] Diversos estudios de fase III desarrollados recientemente que han permitido evaluar la eficacia de la formulación, ponen de manifiesto que el IVR es capaz de reducir en un 37% la adquisición del VIH-1.[36]

Otros fármacos no antirretrovirales han sido formulados en forma de IVRs. Es el caso de los inhibidores de los receptores CCR5, MVC y CMPD167. Los fármacos se incorporaron en IVRs de silicona en forma de dispersiones micronizadas y fueron ensayados tanto *in vitro* como *in vivo* en macacos. Los ensayos demostraron un buen perfil farmacocinético para ambas sustancias con una liberación prolongada de las sustancias activas, manteniéndose altas concentraciones de los fármacos durante 28 días.[37]

Los IVR más novedosos incluyen en su matriz anticuerpos monoclonales como es el caso de VRC01-N. Este anticuerpo tiene un alto poder de neutralización de hasta el 91% del VIH-1. Un ensayo clínico en macacos encontró que los niveles del anticuerpo se mantenían estables durante un periodo de 21 días. A pesar del gran avance científico que suponen estos dispositivos, los altos costes de fabricación, así como la dificultad para producir el anticuerpo a gran escala para desarrollar más ensayos clínicos, podrían suponer una gran desventaja y un factor limitante para continuar la investigación de los mismos.[38]

Actualmente, los esfuerzos se centran en el desarrollo de IVRs que combinen diferentes sustancias activas con el fin de ejercer un múltiple efecto terapeutico. Son los conocidos como “*Multi purpose technology intravaginal rings*”(MPT-IVR). Así, recientemente fue desarrollado un MPT-IVR basado en la combinación de cuatro fármacos diferentes con un triple propósito: TFV con la finalidad de proteger frente a la transmisión del VIH, aciclovir con el propósito de evitar la infección por el HSV y etonogestrel en combinación con etinilestradiol con el fin de evitar embarazos no deseados. Los ensayos farmacocinéticos *in vivo* llevados a cabo en macacos demostraron que los diferentes fármacos eran liberados de forma independiente, además de ser capaces de producir concentraciones vaginales y sistémicas suficientes como para garantizar la eficacia terapéutica de los mismos.[39]

-Comprimidos vaginales

Se trata de una forma farmacéutica económica, fácil de fabricar, usar, que suele ser retenida adecuadamente en la mucosa vaginal y que se pueden utilizar para liberar principios activos de forma inmediata o sostenida. Sin embargo, estas formas farmacéuticas pueden desencadenar irritación vaginal por el contacto de la vagina con un sólido y, para garantizar una distribución uniforme y absorción tisular de los fármacos, la hidratación vaginal ha de ser óptima. Así mismo, a excepción de los comprimidos de liberación prolongada, necesitan ser aplicados de una forma dependiente de la relación sexual.[8]

Entre los avances más reseñables en cuanto a comprimidos vaginales destacan los comprimidos de TFV y/o emtricitabina para la prevención del VIH. Se trata de comprimidos de disgregación rápida que demostraron disgregarse completamente en 60-75 segundos. Los resultados de estudios *in vitro* e *in vivo* en animales, revelan un perfil farmacocinético y de seguridad favorable para ambos fármacos y su combinación. Se observó que durante 24 horas, las concentraciones de TFV excedía entre 3 y 100 veces los niveles considerados como protectores y los niveles de emtricitabina superaron la CI_{50} . Sin embargo, pese a los buenos resultados, la necesidad de aplicar diariamente y de una manera dependiente del coito estos comprimidos, ha hecho que estos sistemas carezcan de interés y se centren los esfuerzos en comprimidos de liberación prolongada que garanticen unas concentraciones vaginales sostenidas durante un periodo de tiempo relativamente largo.[40]

Diferentes polímeros como hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), quitosano (CH), goma guar (GG), y Eudragit[®] (ERS) han demostrado ser efectivos en la elaboración de comprimidos vaginales mucoadhesivos de liberación prolongada. Con el fin de elaborar un comprimido vaginal que ofrezca un mayor tiempo de residencia en la mucosa vaginal y una cesión sostenida de TFV durante un mayor periodo de tiempo, se asociaron diferentes polímeros (HPMC/CH, HPMC/ERS, GG/CH y GG/ERS) para crear una matriz polimérica mucoadhesiva capaz de gelificar en presencia del fluido vaginal constituyendo una película gelatinosa que controlase la cesión del fármaco. Los resultados de ensayos *in vitro* de liberación e hinchamiento y estudios *ex vivo* de mucoadhesión concluyen que la combinación HPMC/CH (polímero de alta capacidad de gelificación con polímero de capacidad de gelificación moderada) ofrece un mayor tiempo de residencia vaginal (92h), de cesión sostenida del fármaco (de hasta 72h) y una capacidad de hinchamiento moderada (debido a una mayor proporción de CH) que otorga a la formulación una mayor comodidad de aplicación.[41]

Recientemente, Notario *et al.* con la finalidad de incrementar los tiempos de residencia y el tiempo de cesión de la dosis de fármaco, desarrollaron un comprimido vaginal de liberación sostenida combinando dos sistemas de control de la liberación del fármaco: Una matriz polimérica hidrofílica compuesta por HPMC/CH (con CH en mayor proporción), la cual alberga en su interior gránulos hidrofóbicos de ERS cargados de TFV. Esta formulación mejoró el tiempo de residencia vaginal (150h) y el tiempo de liberación del fármaco (144h) respecto al sistema anterior.[42]

-Films vaginales

Los *films* vaginales son películas altamente mucoadhesivas, flexibles y finas compuestas fundamentalmente de polímeros solubles en agua, que retienen el fármaco en su estructura y que se disuelven al ser colocados en la mucosa vaginal liberando el principio activo. Se trata de formulaciones de pequeño grosor y tamaño, por lo que resultan bastante fáciles y cómodas de usar y no existe posibilidad de pérdida durante su uso. Al igual que los comprimidos pueden desencadenar irritación local y, para garantizar una distribución uniforme y absorción tisular de los fármacos, la hidratación vaginal ha de ser óptima. Sin embargo, su fabricación suele ser tecnológicamente más compleja y, a excepción de los *films* de liberación prolongada, suelen requerir de una aplicación dependiente de la relación sexual.[8]

Uno de los *films* vaginales más estudiados hasta la fecha es el *film* de alcohol polivinílico (PVA) cargado con 1,25mg de DPV. Estas películas fueron diseñadas para disolverse en poco tiempo y ofrecer una liberación rápida del principio activo. Los datos obtenidos en ensayos de liberación *in vitro* corroboran lo anterior, con una liberación de más del 50% de la sustancia activa en menos de 10 minutos.[43] Un posterior ensayo clínico de fase I demostró que la liberación de la sustancia activa se ajustaba a que hubiera concentraciones suficientes para bloquear la infección por VIH, además de mostrar ser seguro en mujeres sanas. Sin embargo, la necesidad de aplicar este *film* vaginal de una manera dependiente de la relación sexual, ha dado lugar a la investigación de una nueva generación de *films* vaginales de liberación prolongada que puedan ofrecer una protección frente al VIH durante varios días con una sola aplicación.[44]

El PVA es un polímero extensamente usado para la producción de *films* vaginales de disolución rápida. Estos *films*, han presentado caracteres organolépticos aceptables por las participantes de diversos estudios, así como propiedades fisicoquímicas tales como un pH y osmolaridad compatibles con la vagina. Con el fin de incrementar el tiempo de erosión/disolución de estos *films* vaginales para retrasar la liberación del fármaco, recientemente Pereira-Cautela *et al.* han combinado este polímero con pectina para producir un *film* vaginal con una proporción PVA/pectina 75:25, observándose un tiempo de erosión/disolución del *film* notablemente más elevado. Así mismo, los mismos investigadores utilizaron estas proporciones poliméricas para elaborar tres *films* vaginales diferentes portadores de TDF y emtricitabina: Un primer *film* vaginal constituido por una sola capa polimérica; un *film* vaginal compuesto por dos capas de polímero, cada una de ellas con el 50% de la dosis; y un tercer novedoso sistema compuesto por dos capas de *film* sin fármaco entre las cuales se dispusieron nanopartículas de Eudragit® cargadas con los fármacos. El

tiempo de erosión/disolución de los *films* fue mayor en el caso de los *films* compuestos, siendo el último el que ofrece un tiempo notablemente mayor posiblemente por la escasa solubilidad del Eudragit® en el pH ácido de la vagina. A pesar de que esto supone un avance notable hacia *films* vaginales que proporcionen concentraciones sostenidas de fármacos durante un periodo de tiempo relativamente largo, estos novedosos sistemas proporcionaron *in vitro* una liberación de fármacos durante las primeras 8 horas insuficiente para poder otorgar protección frente al VIH *in vivo*. Este hándicap podría ser paliado incluyendo parte de la dosis en la matriz polimérica de la doble capa del *film* para proporcionar una liberación rápida del fármaco y la dosis restante incluirla en las nanopartículas para mantener las concentraciones de fármaco a lo largo del tiempo.[45]

-Otras estrategias

Las fibras electrohiladas suponen una novedosa estrategia consistente en fibras poliméricas cargadas obtenidas mediante *electrospinning* constituidas fundamentalmente por polímeros como el ácido poliglicólico (PGA), el ácido poliláctico (PLA), la policaprolactona (PCL) y el ácido poli(láctico-co-glicólico) -PLGA-, capaces de liberar rápidamente el fármaco en la mucosa vaginal otorgando una protección frente al VIH casi inmediata tras su aplicación. Fármacos antirretrovirales, como TVF o MVC, se han incluido en estas formulaciones obteniéndose tiempos de liberación del fármaco relativamente cortos, siendo las formulaciones realizadas con PVA las que otorgaron mejores tiempos de liberación.

Los sistemas de fibras electrohiladas más novedosos incluyen formulaciones de liberación prolongada como es el caso de los sistemas de PVP recubiertos de una capa hidrofóbica de etilcelulosa, los cuales permiten una liberación prolongada de la sustancia activa de hasta 120 horas. Otros sistemas se basan en la liberación de la sustancia activa como respuesta a un estímulo como es el caso de las fibras electrohiladas de ácido hialurónico tiolado, que demostraron liberar el 87% de fármaco en una hora tras la eyaculación debido a la presencia en el semen de la enzima hialuronidasa. Dentro del grupo de fibras electrohiladas que liberan la sustancia como respuesta a un estímulo, encontramos las fibras electrohiladas de MES-PLGA y PBA-co-PAA. Estos polímeros, tienen una gran abundancia de grupos carboxilo, los cuales a pH vaginal se mantienen ionizados. El aumento de pH inducido por el semen desencadena la ionización de estos grupos carboxilo, produciendo una repulsión electrostática, que induce la liberación del principio activo. Estos sistemas que liberan el fármaco como respuesta al aumento de pH, pueden suponer un gran avance para formular

sustancias que pierden actividad con rapidez o de las que se necesitan grandes cantidades para bloquear la infección en el momento de la eyaculación, como es el caso de la grifitsina.

Recientemente y con el propósito de elaborar una formulación de liberación prolongada, se desarrollaron fibras electrohiladas basadas en la combinación de los polímeros PLGA y PLCL cargadas de TDF. La formulación, no solo ha demostrado liberar el principio activo durante un periodo de tiempo relativamente largo, sino que otorgó protección *in vitro* frente al VIH-1 y HSV-2 de forma simultánea durante 1 semana y 24 horas, respectivamente.[46]

Otra alternativa propuesta para la prevención de la adquisición del VIH son los probióticos. Se ha conseguido modificar genéticamente una cepa de *Lactobacillus jensenii* para expresar CV-N, un potente microbicida que ha demostrado exitosamente prevenir la adquisición de la infección. Estudios *in vivo* en modelos murinos han confirmado que la cepa bacteriana es capaz de colonizar la vagina y producir altas concentraciones de CV-N durante largos periodos de tiempo. Además, reduce la transmisión del VIH en macacos y preserva el medio vaginal disminuyendo la posibilidad de desarrollar inflamación.[7]

6. Conclusión

Se puede concluir que los microbicidas suponen una herramienta de especial importancia para la prevención del VIH en mujeres.

Las formas farmacéuticas clásicas como los geles, *films* y comprimidos vaginales han demostrado en general, una gran incapacidad para otorgar concentraciones sostenidas de fármaco a nivel vaginal. Esto hace que se requiera una aplicación de varias veces al día y de una manera dependiente del coito, lo que ha concluido en múltiples casos, en un fracaso terapéutico por falta de adherencia.

Novedosas formas farmacéuticas como los anillos vaginales, las nanopartículas vehiculizadas en formas farmacéuticas clásicas o las fibras electrohiladas, han revelado paliar este principal inconveniente. A pesar de ello, se encuentran lejos de su aplicación clínica ya que están en fases tempranas del desarrollo.

7. Bibliografía

1. WHO. VIH/SIDA [Internet]. Última revisión en noviembre de 2017 [Citado en abril de 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/es/>

2. The HIV Life Cycle [Internet]. Última revisión en agosto de 2017 [Citado en abril de 2018]. Disponible en: <https://aidsinfo.nih.gov/understanding-hiv-aids/fact-sheets/19/73/the-hiv-life-cycle>
3. The Stages of HIV Infection [Internet]. Última revisión en agosto de 2017 [Citado en abril de 2018]. Disponible en: <https://aidsinfo.nih.gov/understanding-hiv-aids/fact-sheets/19/46/the-stages-of-hiv-infection>
4. Medicamentos contra el VIH autorizados por la FDA [Internet]. Última revisión en marzo de 2018 [Citado en abril de 2018]. Disponible en: <https://infosida.nih.gov/understanding-hiv-aids/fact-sheets/21/58/medicamentos-contra-el-vih-autorizados-por-la-fda>
5. Con qué empezar: Cómo seleccionar un régimen inicial para el tratamiento del VIH [Internet]. Última revisión en marzo de 2018 [Citado en abril de 2018]. Disponible en: <https://infosida.nih.gov/understanding-hiv-aids/fact-sheets/21/53/con-que-empezar--como-seleccionar-un-regimen-inicial-para-el-tratamiento-del-vih/>
6. Ruiz C, Torres V, Cianelli R, et al. Microbicidas. Método de Prevención en VIH/SIDA controlado por mujeres. *Hisp Health Care Int.* 2009;7(1):35–48.
7. Notario-Pérez F, Ruiz-Caro R, Veiga-Ochoa MD. Historical development of vaginal microbicides to prevent sexual transmission of HIV in women: from past failures to future hopes. *Drug Des Devel Ther.* 2017;11:1767–1787.
8. Adams JL, Kashuba AD. Formulation, pharmacokinetics and pharmacodynamics of topical microbicides, best practice & research. *Clin Obstet Gynaecol.* 2012;26(4):451–462.
9. Weber J, Desai K, Darbyshire J. The development of vaginal microbicides for the prevention of HIV transmission. *PLoS Med.* 2005;2(5):e142.
10. Feldblum PJ, Adeiga A, Bakare R, et al. SAVVY vaginal gel (C31G) for prevention of HIV infection: a randomized controlled trial in Nigeria. *PLoS One* 2008;3(1):e1474.
11. McCormack S, Ramjee G, Kamali A, et al. PRO2000 vaginal gel for prevention of HIV-1 infection (Microbicides Development Programme 301): a phase 3, randomised, double-blind, parallel-group trial. *Lancet* 2010;376(9749):1329–1337.
12. Rupp R, Rosenthal SL, Stanberry LR. VivaGel™(SPL7013 gel): a candidate dendrimer–microbicide for the prevention of HIV and HSV infection. *Int J Nanomedicine* 2007;2(4):561–566.
13. Moscicki AB, Kaul R, Ma Y, et al. Measurement of mucosal biomarkers in a phase 1 trial of intravaginal 3% StarPharma LTD 7013 gel (Viva-Gel) to assess expanded safety. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2012;59(2):134–140.

14. Carraguard Phase II South Africa Study Team. Expanded safety and acceptability of the candidate vaginal microbicide Carraguard® in South Africa. *Contraception* 2010;82(6):563–571.
15. Halpern V, Ogunsola F, Obunge O, et al. Effectiveness of cellulose sulfate vaginal gel for the prevention of HIV infection: results of a Phase III trial in Nigeria. *PLoS One* 2008;3(11):e3784.
16. Fernández-Romero JA, Gil PI, Ré V, et al. Microbicidas para la prevención de infecciones de transmisión sexual: estado actual y estrategias para la evaluación preclínica de nuevos candidatos. *Rev Argent Microbiol.* 2014;46(3):256–268.
17. Tan S, Lu L, Li L, et al. Polyanionic candidate microbicides accelerate the formation of semen-derived amyloid fibrils to enhance HIV-1 infection. *PLoS One* 2013;8(3):e59777.
18. van der Wijgert J, Fullem A, Kelly C, et al. Phase 1 trial of the topical microbicide BufferGel: safety results from four international sites. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2001;26(1):21–27.
19. Abdool Karim SS, Richardson BA, Ramjee G, et al. Safety and effectiveness of BufferGel and 0.5% PRO2000 gel for the prevention of HIV infection in women. *AIDS* 2011;25(7):957–966.
20. Mori T, Boyd MR. Cyanovirin-N, a potent human immunodeficiency virus-inactivating protein, blocks both CD4-dependent and CD4-independent binding of soluble gp120 (sgp120) to target cells, inhibits sCD4-induced binding of sgp120 to cell-associated CXCR4, and dissociates bound sgp120 from target cells. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45(3):664–672.
21. Tsai CC, Emau P, Jiang Y, et al. Cyanovirin-N gel as a topical microbicide prevents rectal transmission of SHIV89.6P in macaques. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2003;19(7):535–541.
22. Buffa V, Stieh D, Mamhood N, et al. Cyanovirin-N potently inhibits human immunodeficiency virus type 1 infection in cellular and cervical explant models. *J Gen Virol.* 2009;90(1):234–243.
23. O'Keefe BR, Murad AM, Vianna GR, et al. Engineering soya bean seeds as a scalable platform to produce cyanovirin-N, a non-ARV microbicide against HIV. *Plant Biotechnol J.* 2015;13(7):884–892.
24. Kouokam JC, Huskens D, Schols D, et al. Investigation of griffithsin's interactions with human cells confirms its outstanding safety and efficacy profile as a microbicide candidate. *PLoS One* 2011;6(8):e22635.

25. Lusvarghi S, Bewley CA. Griffithsin: an antiviral lectin with outstanding therapeutic potential. *Viruses* 2016;8(10):296.
26. McConville C, Boyd P, Major I. Efficacy of tenofovir 1% vaginal gel in reducing the risk of HIV-1 and HSV-2 infection. *Clin Med Insights Womens Health* 2014;7:1–8.
27. Chuchuen O, Maher JR, Henderson MH, et al. Label-free analysis of tenofovir delivery to vaginal tissue using co-registered confocal Raman spectroscopy and optical coherence tomography. *PLoS One* 2017;12(9):e0185633.
28. Dezzutti CS, Yandura S, Wang L, et al. Pharmacodynamic activity of dapivirine and maraviroc single entity and combination topical gels for HIV-1 prevention. *Pharm Res.* 2015;32(11):3768–3781.
29. Malcolm RK, Forbes CJ, Geer L, et al. Pharmacokinetics and efficacy of a vaginally administered maraviroc gel in rhesus macaques. *J Antimicrob Chemother* 2013;68(3):678–683.
30. Forbes CJ, Lowry D, Geer L, et al. Non-aqueous silicone elastomer gels as a vaginal microbicide delivery system for the HIV-1 entry inhibitor maraviroc. *J Control Release.* 2011;156(2):161–169.
31. das Neves J, Nunes R, Rodrigues F, et al. Nanomedicine in the development of anti-HIV microbicides. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016;103:57–75.
32. Johnson TJ, Clark MR, Albright TH, et al. A 90-day tenofovir reservoir intravaginal ring for mucosal HIV prophylaxis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(12):6272–6283.
33. Srinivasan P, Dinh C, Zhang J, et al. Pharmacokinetic evaluation of tenofovir disoproxil fumarate released from an intravaginal ring in pigtailed macaques after 6 months of continuous use. *J Med Primatol.* 2015;43(5):364–369.
34. Keller MJ, Mesquita PM, Marzinke MA, et al. A phase 1 randomized placebo-controlled safety and pharmacokinetic trial of a tenofovir disoproxil fumarate vaginal ring. *AIDS* 2016;30(5):743–751.
35. Nel A, Bekker LG, Bukusi E, et al. Safety, Acceptability and Adherence of Dapivirine Vaginal Ring in a Microbicide Clinical Trial Conducted in Multiple Countries in Sub-Saharan Africa. *PLoS One* 2016;11(3):e0147743.
36. Baeten JM, Palanee-Phillips T, Brown ER, et al. Use of a Vaginal Ring Containing Dapivirine for HIV-1 Prevention in Women. *N Engl J Med.* 2016;375(22):2121–2132.
37. Malcolm RK, Veazey RS, Geer L, et al. Sustained release of the CCR5 inhibitors CMPD167 and maraviroc from vaginal rings in rhesus macaques . *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(5):2251–2258.

38. Zhao C, Gunawardana M, Villinger F, et al. Pharmacokinetics and Preliminary Safety of Pod-Intravaginal Rings Delivering the Monoclonal Antibody VRC01-N for HIV Prophylaxis in a Macaque Model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(7):e02465–16.
39. Smith JM, Moss JA, Srinivasan P, et al. Novel multipurpose pod-intravaginal ring for the prevention of HIV, HSV, and unintended pregnancy: Pharmacokinetic evaluation in a macaque model. *PLoS One* 2017;12(10):e0185946.
40. Pereira LE, Clark MR, Friend DR, et al. Pharmacokinetic and Safety Analyses of Tenofovir and Tenofovir-Emtricitabine Vaginal Tablets in Pigtailed Macaques. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(5):2665–2674.
41. Notario-Pérez F, Cazorla-Luna R, Martín-Illana A, et al. Optimization of tenofovir release from mucoadhesive vaginal tablets by polymer combination to prevent sexual transmission of HIV. *Carbohydr Polym.* 2018;179:305–316.
42. Notario-Pérez F, Martín-Illana A, Cazorla-Luna R, et al. Improvement of Tenofovir vaginal release from hydrophilic matrices through drug granulation with hydrophobic polymers. *Eur J Pharm Sci.* 2018;117:204–215.
43. Akil A, Parniak MA, Dezzuitti CS, et al. Development and Characterization of a Vaginal Film Containing Dapivirine, a Non-nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor (NNRTI), for prevention of HIV-1 sexual transmission. *Drug Deliv Transl Res.* 2011;1(3):209–222.
44. Bunge KE, Dezzuitti CS, Rohan LC, et al. A Phase 1 trial to assess the safety, acceptability, pharmacokinetics and pharmacodynamics of a novel dapivirine vaginal film. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2016;71(5):498–505.
45. Pereira-Cautela M, Moshe H, Sosnik A, et al. Composite films for vaginal delivery of tenofovir disoproxil fumarate and emtricitabine. *Eur J Pharm Biopharm.* 2018; doi: 10.1016/j.ejpb.2018.02.001
46. Tyo KM, Vuong HR, Malik DA. Multipurpose tenofovir disoproxil fumarate electrospun fibers for the prevention of HIV-1 and HSV-2 infections in vitro. *Int J Pharm.* 2017;531(1):118–133.