



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

TRABAJO DE FIN DE GRADO

VECTORES ACTIVOS DE NUEVA GENERACIÓN

Autor: Irene Pérez Coll

Tutor: M^a Elvira Franco Gil

Convocatoria: Junio – 2018

INDICE

1. RESUMEN:.....	3
2. INTRODUCCIÓN.....	3
3. OBJETIVOS.....	4
4. METODOLOGÍA.....	4
5. RESULTADOS	4
5.1 Características y ventajas de los vectores activos.....	4
5.2 Desarrollo y evolución de los vectores activos:.....	5
5.3 Modificaciones estructurales del vector activo.....	6
5.3.1 Modificaciones superficiales: factor clave para la estabilidad	6
5.3.2 Carga superficial: interacción y penetración celular:	7
5.3.3 Tamaño y forma.....	7
5.3.4 Toxicidad en relación con las propiedades de su superficie:.....	8
5.4 Constituyentes del vector activo	8
5.4.1 Densidad del ligando.....	8
5.4.2 Conjugación con el ligando.	9
5.5 Tipos de vectores	10
5.6 Aplicaciones clínicas y perspectivas terapéuticas de los vectores activos.	13
5.6.1. Terapia oncológica:.....	13
5.6.2. Acceso a Sistema Nervioso (SN).....	16
5.6.3. Administración oral.....	17
5.6.4. Otras aplicaciones	17
7. BIBLIOGRAFÍA.....	19

1. RESUMEN:

La vectorización surge como consecuencia de las limitaciones de agentes terapéuticos y de las terapias actuales. Principalmente la activa, que mediante el empleo de nanovectores funcionalizados, da lugar a una interacción específica entre el ligando y su receptor, permitiendo el acceso selectivo intracelular. El desarrollo de estos nanovectores activos, algunos multifuncionales, se ha incrementado en los últimos años, en su mayoría en terapia oncológica y sistema nervioso (SN), favoreciendo el acceso a SN y reduciendo efectos adversos de agentes antitumorales. El objetivo consiste en conocer estos vectores y realizar una revisión de las aplicaciones recientes, determinándose las ventajas de los nanosistemas y su potencial en múltiples aplicaciones, como consecuencia de un mayor conocimiento y control morfológico, así como de las dianas involucradas en diversas patologías.

Palabras clave: nanotecnología, vectorización, vectores activos, nanosistemas funcionalizados, nanopartículas

2. INTRODUCCIÓN:

La tecnología farmacéutica ha experimentado una evolución en las últimas décadas para sobreponerse a los problemas de las nuevas moléculas que han surgido como consecuencia del desarrollo de la biotecnología, del mayor conocimiento de procesos fisiopatológicos y de las dianas terapéuticas.

Una mayoría presentan tres problemas, la estabilidad, la solubilidad y una falta de selectividad. Se estima que alrededor de un 40% de los fármacos son de clase II y presentan una solubilidad reducida. Todo ello supone una disminución de la biodisponibilidad [1], en consecuencia, una limitación en la actividad farmacológica en biofase y una posible acción no deseada sobre otras estructuras.

Esto junto con la escasa penetración intracelular y degradación da lugar al fallo terapéutico de prometedores agentes terapéuticos, lo cual cobra mayor importancia en productos que contienen proteínas o ácidos nucleicos, ya que para que la alcancen y evitar su degradación, requieren unos sistemas transportadores innovadores

Para solventar estos problemas ha surgido la vectorización de fármacos que permite mejorar la liberación de las moléculas activas en la diana, obviando las barreras biológicas que lo impedían y consiguiendo alcanzar la BD y un aumento de la eficacia junto con una disminución de la toxicidad[2]

La **vectorización** es un recurso destinado a modular la biodistribución de un principio activo, optimizando su liberación mediante la administración de un sistema que se distribuye por el organismo y, cuando alcanza la diana, libera el principio activo. Puede ser de 3 tipos: pasiva, mediada por estímulos o bien, el nanosistema puede unirse de forma *activa* mediante un ligando, a través de una interacción específica.

Se ha ido desarrollando desde 1950 con la encapsulación de principios activos, hasta el presente, con nanovectores dirigidos y constituidos por diversos elementos. En las últimas décadas el desarrollo de vectores activos y su control morfológico se ha convertido en un área importante de investigación.

La vectorización activa también se denomina vectorización mediada por ligando, se consigue mediante un nanosistema, en la que la superficie del vector es funcionalizada permitiendo una unión selectiva, acumulación y liberación de la molécula en el lugar al que es dirigido, así como, la protección y la penetración al interior celular de la molécula vectorizada.

La eficacia se evalúa mediante la especificidad y la capacidad de liberación. La especificidad depende de la biodistribución del vector funcionalizado y de, la capacidad del ligando conjugado y del sistema,

de interactuar con las estructuras diana, mientras que la capacidad de liberación está directamente relacionada con la estructura y material del vector. [3] Por tanto, para lograr una eficacia adecuada hay que tener en cuenta tres componentes, el principio activo, el ligando y el vector activo.

El **vector activo** es un vehículo funcionalizado, englobado en la última generación de la nanotecnología, capaz de liberar una molécula en el lugar de acción tras una interacción específica, en las mejores condiciones, modulando la distribución y aclaramiento de la molécula en el organismo. Mediante el control de su tamaño, superficie y material que lo constituye, darán lugar a sistemas con una liberación selectiva a nivel del órgano o tejido o bien a nivel celular.

3. OBJETIVOS

Los objetivos de este trabajo consisten en: **1)** conocer la **importancia** de los vectores, su comportamiento, analizar sus **requisitos morfológicos** para emplearse como vectores de fármacos, **2)** conocer el **desarrollo y formación** de los vectores activos, y **3)** el estudio de vectores que están en investigación y las **posibilidades clínicas** futuras que ofrece la nanotecnología, a nivel terapéutico, para administración oral, sistema nervioso, y para terapia oncológica

4. METODOLOGÍA:

Para la realización de este trabajo se empleó material bibliográfico de **bases de datos** como PubMed y Science Direct, de las cuales se han obtenido **artículos y revistas**, principalmente artículos publicados en la revista de *Journal of Controlled release*. A las dos últimas bases mencionadas se accedió a través de la cuenta del correo institucional UCM; y se emplearon **palabras clave** como ‘drug delivery’, ‘active carriers’ y ‘nanotechnology’, así como **criterios** de idioma en inglés o español y fecha de publicación superior al 2010. También se emplearon **libros** de nanotecnología obtenidos de la Biblioteca de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense y artículos online de la misma.

5. RESULTADOS

5.1 Características y ventajas de los vectores activos

Los vectores pueden ser nanopartículas (NPs), liposomas (LP), micelas poliméricas, conjugados poliméricos, dendrímeros u organismos vivos [1].

Debido a su reducido tamaño y un amplia área superficial presentan una mayor solubilidad y como consecuencia, se alcanza la **biodisponibilidad** de la molécula, así como la capacidad adicional para cruzar la barrera hematoencefálica (BHE), la entrada en el sistema pulmonar, su aplicación nasal y ser absorbidos a través de las uniones de las células de la piel [5].

También les confiere la capacidad de ser **funcionalizados** en su superficie, con polímeros y ligandos específicos dando lugar a los **vectores activos**(fig.1) lo cual incrementa el tiempo que permanece el nanosistema en sangre, su reconocimiento específico y unión a células diana.

Presentan la capacidad de **cargar moléculas** hidrófilas o hidrófobas, ya sea atrapándolas en su interior o bien mediante adsorción o conjugación covalente, así como la de modificar su tamaño, carga y superficie mediante grupos funcionales, modulando su biodistribución y toxicidad.

Las finalidades son: [1]

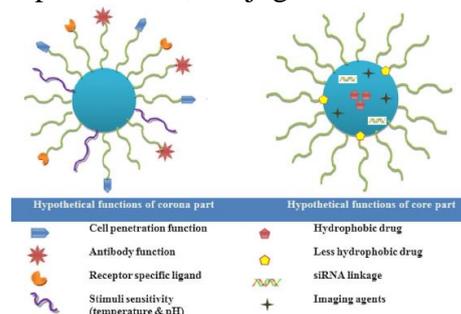


Fig. 1. Diversas posibilidades de funcionalización (Deshmukh, A.S, et al. 2017) [22]

- **Proteger el fármaco** de su degradación física y química
- **Incrementar la absorción** facilitando la difusión a través de los epitelios (importante para admón. alternativa a la parenteral)
- Modificar las características farmacocinéticas y el perfil de distribución **incrementando la eficacia y disminuyendo efectos indeseables**
- Incrementar la penetración y distribución intracelular.
- Mejorar técnicas de imagen y **diagnóstico**
- A nivel farmacoeconómico, una **disminución del coste** global del tratamiento

La funcionalización posibilita el acceso intracelular y la protección del fármaco de la degradación lisosomal, llegando a obtener sistemas multifuncionales, constituidos por diversos elementos [1].

Los sistemas deben cumplir unos requisitos: ser biocompatibles y biodegradables (importante en la admón. parenteral), carencia de toxicidad, forma adecuada, capacidad de incorporación del principio activo, posibilidad de funcionalizar su superficie, no ser captados por el sistema fagocítico, un prolongado tiempo de circulación, así como la capacidad de liberar la molécula activa.

Por tanto, para su empleo hay que tener en cuenta, los aspectos biofarmacéuticos y farmacocinéticos (opsonización y endocitosis por el sistema fagocítico, tiempo de permanencia en sangre, paso hepático y eliminación renal) y estructurales del vector (tamaño, superficie, carga superficial) [4]

5.2 Desarrollo y evolución de los vectores activos:

Comienza en 1950 y continúa hasta el presente, abarcando, en varios artículos hasta el año 2040. En función de las barreras y los logros, se divide en tres generaciones (fig. 2)

En la primera generación de nanomedicinas la tecnología se sobrepone a las barreras físico-químicas, controlando propiedades como la baja solubilidad de principios activos mediante la encapsulación.

En 1980 comenzó la segunda generación que destacó por el desarrollo de la pegilación y el efecto de retención y permeación, sin embargo, carecían de la capacidad de sobreponerse a las barreras biológicas lo cual complicaba una liberación eficaz. Los nanosistemas funcionaban por una acumulación pasiva mediada por su pequeño tamaño, pero no por un reconocimiento específico[6]

De esta forma surgió la **tercera generación** de nanosistemas que abarca desde el 2010 hasta el momento actual, denominada vectores dirigidos o **activos**, capaces de controlar la liberación del principio activo encapsulado, con el objetivo de alcanzar localizaciones específicas a las cuales son dirigidos mientras se mantiene un control favorable de la semivida, la toxicidad, y de esta forma, tengan un impacto positivo al trasladarlos a ensayos clínicos [6]

Para conseguir esto surgen numerosas complicaciones como la necesidad de entender, las propiedades o función del vector, los grupos funcionales, los métodos para la conjugación y, la necesidad de evitar interacciones indeseables del nanovector con estructuras biológicas antes de alcanzar su diana.

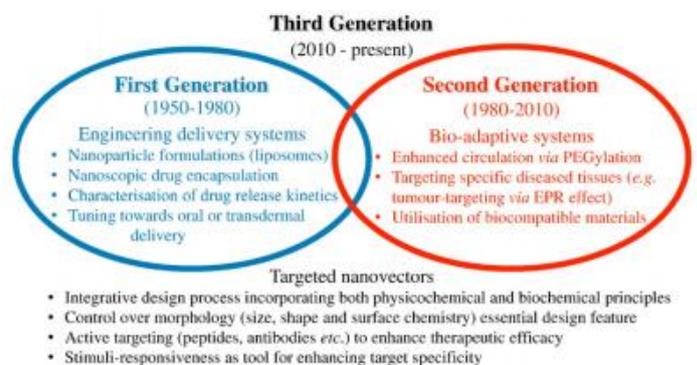


Fig 2. Evolución de los vectores (S williams, D, et al. 2017)[6]

5.3 Modificaciones estructurales del vector activo

Se ha observado que la interacción entre el tamaño, forma, composición química y propiedades superficiales determinan la tasa y vía de internalización celular y en última instancia, la eficacia del nanosistema. Por tanto, el control morfológico del vector es el factor determinante para alcanzar la eficacia biológica. [6]

Estos nanosistemas presentan limitaciones en el medio biológico, entre las que destaca el reconocimiento por el sistema fagocítico que conlleva la eliminación del nanosistema, que la matriz de un tejido patológico es rica en lípidos, péptidos proteolíticos, citoquinas y factores de crecimiento que comprometen la estabilidad del vector, además de la presencia de bombas de eflujo en las células dianas. Y por último, la posibilidad de sufrir una degradación hidrolítica lisosomal ya que los nanosistemas normalmente son capturados por endocitosis y, por tanto, pueden sufrir dicha degradación [3]

Teniendo en cuenta esto, *¿Cómo se pueden conseguir sistemas que consigan optimizar la actividad terapéutica mediante el acceso exclusivo a biofase?* Mediante los vectores, la manipulación de su superficie y tamaño. Para ello se van a analizar las modificaciones representadas en la figura 3.

La superficie del vector es lo que entra en contacto con los sistemas biológicos, las características de la superficie del vector, su curvatura, ligandos conjugados y reactividad, determinan cómo se comportará el nanosistema *in vivo* y por tanto la efectividad, estabilidad, interacciones celulares, liberación de la molécula y su toxicidad [4]

5.3.1 Modificaciones superficiales: factor clave para la estabilidad

Uno de los primeros objetivos en la modificación es **aumentar la semivida del nanosistema**

permitiendo la llegada a la estructura diana antes de su eliminación, acumularse y, junto con el ligando, alcanzar la internalización celular. Las nanopartículas (NPs) convencionales cuya superficie no se modifica, son inestables, reconocidas y captadas por el sistema fagocítico a través de la opsonización.

Generalmente es el *grado de hidrofobicidad* lo que determina la unión de opsoninas, de forma que, un alto grado de hidrofilia está asociado con una menor unión de estas proteínas y mayor estabilidad, mientras que la superficie hidrófoba produce la agregación de las NPs a través de interacciones hidrofóbicas, disminuye la energía superficial, lo cual activa la opsonización y la eliminación de la NP. [4,6]

Por ello la superficie se conjuga con polímeros o surfactantes biocompatibles e hidrofílicos o, con copolímeros con propiedades hidrofílicas, ya que repelen otras moléculas por efectos estéricos. El más empleado es el PEG, es un polímero protector que confiere estabilidad; además presenta propiedades como hidrosolubilidad, biocompatibilidad, biodegradabilidad, la flexibilidad de sus cadenas, baja inmunogenicidad, ausencia de acumulación en SRE y mínima influencia sobre las propiedades farmacológicas del fármaco que se incluye en el nanosistema [1]

Sin embargo, en los últimos años se ha dilucidado la inducción de una respuesta inmune, al inyectar NPs pegiladas a ratones. Las anti-PEG IgM presentan especificidad por el PEG, además, la presencia de

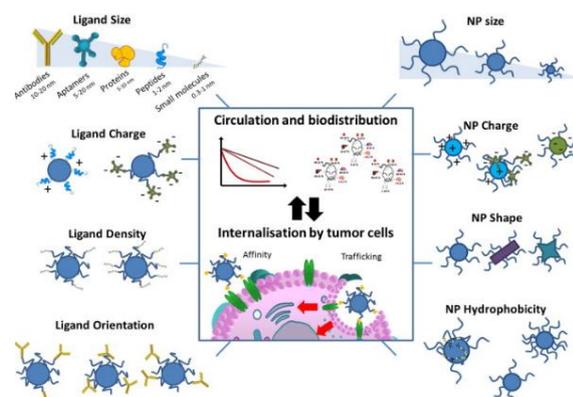


Fig 3. Modificaciones físico-químicas para la obtención de vectores activos de nueva generación (Bertrand, N, *et al.*, 2014)[7]

un bloque hidrofóbico próximo a cada cadena de PEG es esencial para su unión, presentando una unión dependiente de la longitud del bloque hidrofóbico [8].

La unión con ciclodextrinas en la superficie de las NPs permite una mejora de la estabilidad del nanosistema, la solubilidad en agua y biocompatibilidad de las NPs, manteniéndose en la circulación sanguínea durante un tiempo más prolongado. [9]

Hay otros polímeros que actúan como biomiméticos logrando el mismo objetivo, como el dermatán-sulfato glicosaminoglicano, el cual es capaz de adherirse a las adhesinas vasculares locales aumentadas al igual que los leucocitos, de forma que las NP son repelidas por el endotelio sano y se adhieren al neovascular tumoral. Mediante la misma estrategia se ha propuesto la preparación de partículas recubiertas con heparina que inhibe la activación del complemento. [3]

A nivel de internalización del vector activo, la incorporación de péptidos fusogénicos como el DOPE favorece que el vector evite el compartimento lisosomal, también recientemente se ha visto que la distribución intracelular puede ser controlada mediante la incorporación del péptido Tat [1,10]

Actualmente hay numerosas estrategias para alcanzar la estabilidad, como los nanohíbridos, superficies biomiméticas, o glicosilación, que solventan la aparición de Anti-PEG IgM. Las modificaciones mediante diversos polímeros permiten alcanzar una semivida adecuada, evitando su aclaramiento y en algunos casos, también proporcionan selectividad

5.3.2 Carga superficial: interacción y penetración celular:

Las membranas celulares están cargadas negativamente, por tanto, la carga final del nanosistema constituye un factor clave en la interacción celular, mostrando niveles superiores de internalización celular las cargadas positivamente. También, la mayoría de los ligandos son moléculas cargadas, lo que implica que la carga final está condicionada por la densidad del ligando y materiales. [4,7]

La carga, en la vectorización activa no es un requisito indispensable para una endocitosis eficiente, ya que las NPs cargadas negativamente o neutras muestran una internalización celular adecuada al ser conjugadas con ligandos. Esto se ha comprobado al conjugar activo fólico a la superficie de NPs cuya internalización celular era muy elevada tanto en la aniónicas como catiónicas [4]

5.3.3 Tamaño y forma

Se ha demostrado que las NP de tamaño inferior a micras presentan ventajas frente a las micropartículas (MP), presentando los sistemas de 100 nm una internalización muy superior a las micropartículas (1 μm), y estas superior a las de 10 μm [4].

Las partículas inferiores a 7 nm sufren una filtración renal y excreción urinaria, y las superiores a 200 nm tienen tendencia a activar al sistema fagocítico. Se estima que el tamaño óptimo para cruzar la BHE y evitar el aclaramiento son aproximadamente 100 nm. Además, un menor tamaño implica que el área superficial incrementa en relación al radio y, por tanto, el principio activo se encontrará más próximo a la superficie, lo cual conlleva una liberación del fármaco más rápida. [5]

En relación a la forma, los nanovectores elipsoidales presentan mayor unión a la superficie celular pero menor internalización que las esféricas. Así mismo, se observó que todas las

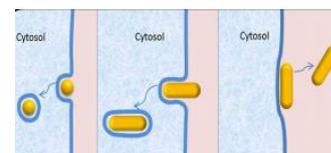


Fig. 4 Internalización en función del ángulo de contacto (Lutful amin, M.D, et al. 2015)[4]

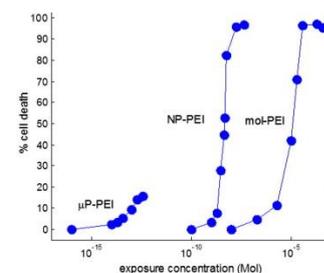


Fig 5. Curva exposición-respuesta al exponerse 24h a micro, nano y vectores moleculares (Summers, H.D, et al. 2016)[11]

NPs eran rápidamente internalizadas cuando se situaban de forma longitudinal, perpendicularmente a la membrana celular, mientras que, en las esféricas, debido a su simetría, era independiente [4]

En la unión celular, interacción y captación también afecta la textura. Mientras que una superficie suave favorece el control de la liberación, una áspera promueve la unión celular mediante interacciones inespecíficas, minimiza las interacciones repulsivas entre las células y partículas. [4]

Las MPs, debido a su mayor tamaño, presentan la capacidad de encapsular mayor cantidad de p,a [5], pero este tamaño restringe su capacidad de internalización (fig.5) ya que la unión del ligando aumentaría aún más su tamaño, siendo por tanto más adecuadas y efectivas las NPs para la vectorización y acceso celular, permitiendo dosis menores y convirtiéndolas en más seguras.

5.3.4 Toxicidad en relación con las propiedades de su superficie:

La toxicidad se debe a la tendencia de captación de los nanosistemas por parte del sistema fagocítico, lo cual da lugar a una acumulación de NPs que afecta a órganos como el hígado o médula o, con alto flujo, como el riñón y pulmones. El mecanismo por el cual la producen se basa en la formación de radicales libres e inducción del estrés oxidativo, como consecuencia de la respuesta de las células fagocíticas a los nanosistemas. [4]

Se ha sugerido que es dependiente del tipo de NP, el material de la **superficie** y los pesos moleculares. Se ve reducida empleando polímeros catiónicos de bajo **peso molecular**(pm) como dextranos de bajo pm, combinación de polímeros anfifílicos o la unión a polímeros hidrofílicos, ya que evita la captación del nanosistema por las células fagocíticas.[1,4]

La **carga superficial** también afecta, en concreto las partículas catiónicas debido a su capacidad para desestabilizar la carga negativa de la membrana celular mediante interacciones electrostáticas; debido a la similitud del gradiente electroquímico de la membrana externa mitocondrial con la plasmática, también pueden dañarlas. La acumulación provoca una alteración en el potencial, provocando daño y liberación de proteínas proapoptóticas en el citosol. La protección de la superficie reduce la toxicidad, así como la adsorción de proteínas séricas en la superficie de NP. [4]

La hidrofilia superficial es importante para prevenir la toxicidad, debido a la protección de la superficie, evitando la unión de diferentes moléculas, como proteínas, metales o MCFs.

5.4 Constituyentes del vector activo

Los ligandos se conjugan a la superficie del nanovector y reconocen receptores de la superficie de las células diana; la eficacia dependerá de la orientación, interacciones específicas de tipo ligando-receptor, e inespecíficas. Las específicas solo son posibles cuando los dos componentes están próximos (< 0,5 nm).

A nivel del órgano o tejido, si la capacidad de captación del sistema por las células es adecuada, la tasa de liberación se iguala al flujo de la sangre [12]

Los ligandos más empleados son moléculas orgánicas pequeñas debido a su estabilidad y control químico de la conjugación, por ejemplo, la biotina (vitamina H) debido a la rápida proliferación de las células tumorales, ácido fólico (B9) por su alta afinidad al receptor de folato y otros motivos específicos como carbohidratos, péptidos y anticuerpos. [7]

5.4.1 Densidad del ligando

La densidad de los ligandos en la superficie del vector repercute en la afinidad por el sustrato.

Termodinámicamente, la unión de un ligando a su sustrato facilita las uniones de los siguientes, y

biológicamente, las múltiples interacciones de los vectores con la membrana, fuerza la concentración local de receptores, que activa la envoltura de la membrana e internalización [7]

In vitro, el uso de múltiples ligandos para la unión a la diana resulta en una alta afinidad y mayor captación celular, pero no es lineal ya que el efecto cooperativo puede saturarse y a partir de ahí, el incremento puede tener efectos negativos en la unión celular, debido a una inadecuada orientación del ligando, hidratación estérica de moléculas vecinas o competición por la unión al receptor. [7]

En estudios recientes in vitro se ha observado en LP que la presencia de dos tipos de ligandos (ácido fólico y anticuerpos frente EGFR) incrementa cuantitativamente la internalización celular para el tratamiento del carcinoma humano de células escamosas (línea de células KB) que sobreexpresan ambos receptores. [4, 7]

5.4.2 Conjugación con el ligando.

Los ligandos que van a dar lugar a una vectorización activa pueden ser absorbidos directamente sobre la superficie del vector, o bien mediante una conjugación covalente [7] esto dependerá del tipo de partículas, en algunas es necesario introducir grupos funcionales para incrementar la reactividad.

La estabilidad del puente de unión entre el ligando y el nanovector dictaminará la capacidad que tendrá el vector de permanecer con el ligando en su superficie.

Conjugación	Ligandos	Ventajas/desventajas
Pre-formulación: previa al ensamblaje de la nanoformulación	Moléc. pequeñas, péptidos, aptámeros	<ul style="list-style-type: none"> ✓ ↓riesgos de reacciones paralelas. ✓ ↑Mayor control sobre las propiedades de las partículas. ✓ Integración de múltiples ligandos. ✓ Facilita la purificación ✗ No pueden emplearse con proteínas con estructura 2^a
Post-formulación: los ligandos reaccionan con las partículas formadas.	Anticuerpos, proteínas, moléc.pequeñas	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Sirve para todo tipo de ligandos. ✓ Cuando el ligando es inestable en un solvente orgánico. ✓ Cuando el ligando es muy largo o cambia las propiedades f-q de los componentes del vector.

Tabla 1. Estrategias de conjugación de ligandos a nanovectores

Las fuerzas de atracción y repulsión entre el ligando y la superficie del vector interfieren en la conjugación o afecta a la estructura, o conformación final del ligando, por ello la conjugación se puede realizar mediante cadenas largas generalmente polímeros, denominadas espaciadores (*linkers*). Se emplean *linkers* bifuncionales mediante series de reacciones químicas, por la formación de un enlace peptídico, o también mediante la formación de un enlace tioéter estable con un grupo tiol del ligando, esta estrategia suele emplearse para la conjugación de anticuerpos [7, 13].

De forma más novedosa, se ha desarrollado una bioconjugación denominada click-chemistry, que consta de una reacción de un único paso, con o sin catalizador. Es un método muy selectivo, sin reacciones paralelas y con buenos rendimientos. En el caso de emplearse catalizador habría que eliminarlo, lo cual podría tener efectos negativos en los propios ligandos. [7]

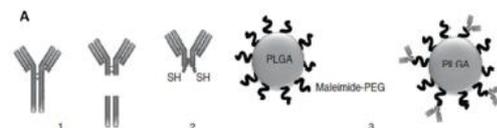


Fig 6. Conjugación mediante enlace tioéter (Kennedy, P, et al.2017) [26]

Los *linkers* son un componente esencial, confiriendo estabilidad, vectorización, capacidad de encapsulación y una liberación controlada, principalmente los "inteligentes" como los grupos hidrazona, azo, disulfuro, péptidos, que pueden escindirse por estímulos externos o internos. Su diseño

es crítico para el desarrollo de nanosistemas efectivos, reproducibles, debiendo estudiar el tipo de linker, longitud y lugar de unión de la molécula. [14]

El último componente es el **agente terapéutico** o de diagnóstico, que puede ser encapsulado, unido covalentemente o adsorbido en el nanovehículo, solventado los problemas de solubilidad y aumentando su biodisponibilidad.

Una vez alcance la diana e interaccione con ésta a través del ligando, debe tener capacidad de **liberar la molécula de su matriz**. Esto dependerá del pH/temperatura, de la solubilidad de la molécula, los puentes de unión para su absorción, así como de la capacidad de difusión de la molécula a través de la matriz o del hinchamiento y erosión de ésta [5]

Es imprescindible una adecuada elección del ligando; referido a la densidad, en los estudios se concluye que más ligandos implica una mejor selectividad, sin embargo, hay que establecer el número adecuado. Se desarrollan estrategias de conjugación para adaptarse a las moléculas, minimizando las reacciones y de esta forma, los riesgos de alterar el nanosistema.

5.5 Tipos de vectores

Todos presentan un tamaño nanométrico, baja toxicidad, estabilidad, la capacidad de encapsular y proteger una o varias moléculas sinérgicas y permiten un buen control de su liberación, con una superficie versátil que permite su funcionalización y, por tanto, capacidad de vectorización celular.

NPs poliméricas: son un sistema coloidal, biodegradables, donde la molécula activa puede ser encapsulada, atrapada en una matriz (nanoesferas) o atrapada en una cavidad rodeada por una membrana polimérica (nanocápsula), siendo posible la conjugación de la molécula en la superficie o núcleo. [5,13]

Presentan un tamaño entre 100 y 200 nm, baja inmunogenicidad, mejor estabilidad, mejor control de sus propiedades fisicoquímicas y un coste bajo de producción, así como una mejor liberación de la molécula por difusión (a través de la matriz polimérica) o erosión/degradación de la NP. [13]

Las **NP lipídicas sólidas (SNL)** representan uno de los sistemas mejor optimizados y con el perfil de circulación sanguínea más extenso. Están constituidas por un núcleo sólido hidrofóbico de lípidos unidos a una monocapa de fosfolípidos[13].

Favorecen el transporte de fármacos lipófilos y presentan baja toxicidad y facilidad de producción, en la que se evitan residuos de solventes orgánicos tóxicos. Tiene una elevada capacidad de cargar moléculas hidrófilas y lipófilas, por tanto, constituyen una alternativa a los liposomas o los nanovectores poliméricos. Se emplean para la encapsulación de oligonucleótidos, manteniéndolos intactos y activos[1,13].

Los **liposomas (LP)** consisten en vesículas pequeñas constituidas por una o más bicapas lipídicas que encierran un espacio acuoso. Su tamaño, carga superficial, composición lipídica y contenido de colesterol puede ser manipulado para la vectorización.[1]

Presentan la capacidad de unir compuestos hidrofílicos y siRNA en su núcleo, y lipófilos. Son uno de los vectores mejor estudiados y empleados para el cáncer y acceso a sistema nervioso (SN), mediante liposomas catiónicos pegilados, que se unen al endotelio cargado negativamente e inmunoliposomas. Una desventaja son los problemas de estabilidad y reproducibilidad industrial, oxidación de fosfolípidos y poco espacio en la membrana para encapsular fármacos hidrofóbicos [13]

Los **inmunoliposomas** (fig.7): consisten en la conjugación de anticuerpos o fragmentos, al final de cadenas de PEG en liposomas, para ello se sustituye el grupo metoxi con grupos útiles para dicha conjugación. Presentan numerosas aplicaciones, como la vectorización vascular, tumoral [18], y antiviral, mediante el empleo de anticuerpos dirigidos a proteínas virales, antiparasitarios, mediante anticuerpos dirigidos contra Plasmodium y para vacunas vectorizadas frente antígenos de Leishmania que inducen una mayor inmunidad celular en ratones [15]

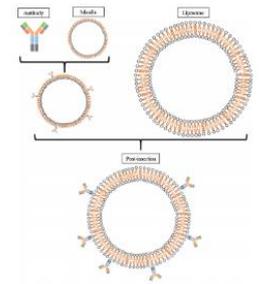


Fig 7. Formación inmuno-LP. Post inserción. (Merino, M, et al.2018)

Los **dendrimeros** están constituidos por repeticiones de moléculas poliméricas muy ramificadas. En su superficie presentan numerosos grupos funcionales disponibles (como aminas terciarias) para la unión del principio activo, agentes de imagen y ligandos (uno o múltiples simultáneamente). Tienen un tamaño reducido, de 1.9 nm los de primera generación hasta 4.4. nm los de última, siendo estos más tóxicos [1,7]

La molécula activa puede ser encapsulada de forma no covalente en el núcleo o covalente en la superficie, siendo posible modificar la liberación mediante el control de la despolimerización [13]

Dentro de las **nanopartículas inorgánicas** están las NPs de oro, quantum dots y las NPs magnéticas, que suponen una forma de desarrollar NPs multifuncionales debido al potencial de combinar una o varias funcionalidades y, simultáneamente la capacidad de otorgar imágenes, terapias térmicas y liberar fármacos en la diana [7]. Su superficie puede ser modificada fácilmente por grupos amino o tiol para la vectorización selectiva a tumores o a estructuras del interior celular como el núcleo. Requieren la modificación de su superficie para hacerlas biocompatibles, y adecuadas para la unión de ligandos [9].

Las **nanopartículas de sílice mesoporosa** presentan buena biocompatibilidad, tamaño uniforme de poro, amplia área superficial. Un nanosistema se basa en la funcionalización con ácido fólico conjugado con polietilenimina (PEI-FA) a través de interacciones electrostáticas entre los grupos fosfato y la carga parcial positiva de grupos amino de PEI-FA. El siRNA cargado negativamente, se combinó en la superficie de las NPs mediante interacciones con la carga positiva del grupo amino. El sistema consiste en la liberación dual, pH dependiente, del siRNA y un agente antitumoral encapsulado. [17]

Debido a que las células tumorales presentan un ambiente ácido, son liberados cuando el nanosistema es internalizado en estas. El estudio se realizó en dos líneas celulares y se alcanzó un efecto combinado antitumoral, del Bcl-2 siRNA y la Doxorubicina (fig.8). En la línea celular HeLa, con receptor ácido fólico positivo, la expresión de la proteína Bcl-2 fue significativamente inhibida, obteniendo un efecto sinérgico. [17]

Las **micelas poliméricas** son nanoestructuras autoensambladas, con un tamaño entre 10 y 200 nm, constituidas por copolímeros anfifílicos. Su núcleo actúa como reservorio para moléculas hidrofóbicas y la superficie, que confiere estabilidad, para hidrofílicas. Su aplicación en tratamiento oncológico es mediante la

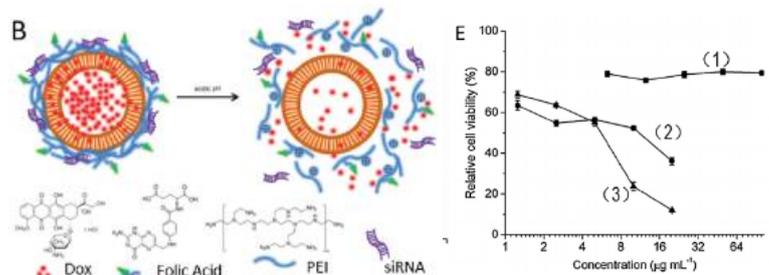


Fig 8. 7. B: representación del nanosistema activo. E Viabilidad celular de células HeLa al ser tratadas solo con el vector y Dox (1) y con el nanosistema (2) (Ma, X, et al. 2017)[17]

conjugación con ligandos como folato o anticuerpos (anticuerpo monoclonal 2C5 o anti-Glut-1, encapsulando Doxorubicina) [18]

El principal uso de los **nanocristales** se basa en incrementar la solubilidad de fármacos. Se emplean como una aproximación tecnológica para evitar los problemas de solubilidad y alcanzar una biodisponibilidad y eficacia terapéutica altas [1]

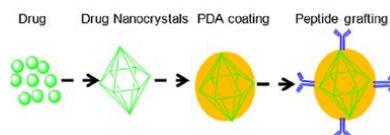


Fig. 9. Formación del nanovector activo. (Zhan, H, *et al.* 2017) [19]

Una investigación reciente se basa en la funcionalización de los nanocristales con camptotecina mediante la unión de polidopamina (PDA) como espaciador y la vectorización mediante un péptido XQ1 que actúa como ligando, unido a la PDA (fig.8). La vectorización por el péptido facilita una translocación rápida del sistema por la membrana vía endocitosis mediada por receptor de transferrina, dando lugar a una liberación intracelular del fármaco más eficiente y selectiva que la camptotecina libre (la cual presenta una baja solubilidad acuosa, inestabilidad y carencia de selectividad) y que el sistema sin ligando (figura 7). [19].

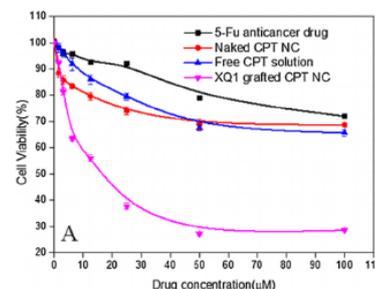


Figura 10. Citotoxicidad in vitro de las moléculas y el nanosistema activo frente a células A549 en 5 h. (Zhan, H, *et al.* 2017) [19]

Los **nanogeles** son moléculas entrecruzadas intramolecularmente; hidrogeles de tamaño inferior a 200 nm. Presentan una estructura porosa, susceptible de ser vectorizada, su hidrofilia hace que sean biocompatibles y tengan una alta capacidad de encapsular agentes hidrofílicos; además la red que forman protege a dichos agentes de la degradación. Los ácidos nucleicos pueden ser fácilmente incorporados debido a interacciones electrostáticas entre la carga negativa de estos y la positiva de los polímeros [2]

Nanotubos de carbono: forma alotrópica del carbono que pueden clasificarse en una única lámina de grafeno (SWCNTs) o multipared que consisten en múltiples capas enrolladas de grafeno (MWCNTs en tubos concéntricos). Se caracterizan por presentar un interior profundo y muy hidrofóbico. Son transportadores prometedores para biomoléculas en el interior celular, sin embargo, solo los amino-mwCNT pueden unirse al DNA debido a interacciones electrostáticas. Su toxicidad debido a la insolubilidad se solventa limitando su longitud y tamaño y modificaciones en su estructura los convierten en transportadores solubles en agua, con menor toxicidad y mayor biocompatibilidad [13,20]

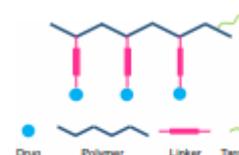


Fig.11. Polímeros vectorizados (Natifji, A.A, *et al.* 2017)[21]

También se pueden emplear polímeros bioconjugados (**PB-PEG**) basados, por ejemplo, en el empleo de un péptido y PEG. Tiene múltiples lugares de unión tanto para fármacos como uno o varios ligandos, dando lugar a una liberación eficaz de la molécula, vectorización y captación celular. Son biodegradables y estable y es degradado selectivamente en el interior de las células diana. Se añaden los fármacos mediante el puente disulfuro reversible, que puede ser diseñado con grados de susceptibilidad para su escisión mediante agentes reductores o espaciadores sensibles al pH/enzimas en la diana. [21]

Los **nanovectores híbridos** están cobrando gran importancia, se basan en la combinación de dos vectores. Los más estudiados actualmente son los nanohíbridos proteína-lípido y los nanohíbridos de dendrímeros. Las ventajas consisten en un aumento de la circulación, liberación más rápida del agente encapsulado y mayor estabilidad.

En el primer caso, la albúmina es la proteína más empleada para unir a los vectores lipídicos, así como la albúmina de suero bovino desnaturalizada (más flexible e hidrofílica) dando lugar a un menor reconocimiento por las opsoninas, además de una acumulación del fármaco en tumores sólidos por la unión a la GP60, y presentan grupos funcionales que permiten la conjugación con ligandos con el objetivo de una doble vectorización (fig.12) [22,23]

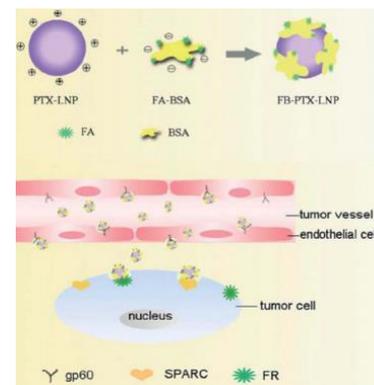


Fig 12. Doble vectorización por BSA y Folato en NPs híbridas (Gaber, M, *et al.* 2017)[23]

5.6 Aplicaciones clínicas y perspectivas terapéuticas de los vectores activos.

Esta evolución de la tecnología farmacéutica ha supuesto numerosas oportunidades en el tratamiento de diversas patologías. El mayor campo de investigación es el tratamiento del cáncer, donde la selectividad y disminución de efectos adversos supone uno de los mayores retos a solventar, así como la investigación para el acceso a sistema nervioso y la administración oral

Algunos nanovectores activos se encuentran en ensayos clínicos: CALAA-01 se ha investigado en pacientes con melanoma, el vector activo consiste en ciclodextrina-PEG-NP-Tf con siRNA. Tras su administración vía i.v. circula y se une a los receptores de Tf, acumulándose en los tumores. Las biopsias muestran una relación entre las dosis administradas y la cantidad de NPs localizadas intracelularmente, como resultado los niveles de RNAm específico y de proteína disminuían.

Otro es el BIND-014, una NP-PLGA-PEG funcionalizada con PSMA¹. La fase I ha demostrado resultados prometedores en pacientes con tumores metastásicos. La fase II se está realizando para el tratamiento del cáncer prostático resistente. [13]

Nombre del producto	Ligando.	Agente encapsulado	Indicación	Fase clínica
<u>Liposomas:</u>				
MBP-426	Tf	Oxaliplatino	Adenocarcinoma gastroesofágico	Fase II
SGT53-01	Fragmento de Ac	p53	Tumores sólidos	Fase I
<u>NP poliméricas:</u>				
BIND-014	PSMA ¹	Docetaxel	Tumores sólidos	Fase II
CALAA-01	Tf	siRNA	Tumores sólidos	Fase II

Tabla.2. Nanomedicinas "activas" en ensayos clínicos.[13]. ¹PSMA: antígeno específico de la membrana prostática)

5.6.1. Terapia oncológica:

La vectorización a células tumorales permite discriminar pequeñas diferencias entre las células sanas y las cancerosas. Los sistemas convencionales dan lugar a una eliminación más rápida del fármaco, la necesidad de administrar la dosis máxima tolerable implica un gasto elevado y mayor toxicidad, así como los requerimientos de terapias combinatorias debido a las múltiples vías y resistencias, mientras que en la vectorización pueden incorporar múltiple agentes terapéuticos con distintos comportamientos farmacológicos en un nanovector, evita las resistencias [14] y efectos adversos indeseados, incrementando, el tiempo de circulación, su selectividad y acumulación en la estructura tumoral. [10,25]

Consiste en conjugar ligandos de marcadores específicos de tumores con nanovectores. Una vez que interacciona el ligando con su receptor, el nanosistema es internalizado en la célula mediante endocitosis y la molécula activa liberada. Hay múltiples estrategias para la vectorización activa mediante el empleo de numerosos ligandos como la transferrina, ácido fólico, LDL, integrinas, péptidos de penetración celular (CPP) o carbohidratos

La **transferrina** (Tf) es una molécula no inmunogénica y no tóxica. Los receptores están sobreexpresados en el 90% de los tumores, en tumores resistentes y metastásicos y la afinidad de unión es mejor en las células tumorales. Su elevada expresión en la BHE favorece el desarrollo de vectores para el acceso a cerebro. También la **lactoferrina**, de la familia de las transferrinas se emplea como ligando. Se pueden conjugar fácilmente a vectores que presentan alta internalización celular, buena acumulación y elevado tiempo de residencia en el tumor [10] (tabla 3)

Vector activo	Agente encapsulado	Ventajas
nanopartículas de PLGA con holotransferrina	Bortezomib	Aumenta la vectorización a las células pancreáticas
	Doxorubicina (DOX)	Mayor citotoxicidad en tumores sensibles a DOX y, en líneas celulares resistentes.
Conjugación de Tf con micelas de PEG-PLA-biotina	DOX	Vectorización selectiva a células de glioma en ratas.
PEG-PLA NPs conjugadas con Lactoferrina	6-cumarina (fluorescente)	Alcanza de forma eficaz el parénquima cerebral.

Tabla 3. Ejemplos de vectores activos funcionalizados con Tf [10]

Los **CPP** son péptidos de pequeño tamaño, lo cual facilita su penetración celular a través de la membrana. Presentan la capacidad de proteger de la degradación por proteasas y nucleasas y disminuyen la inmunogenicidad. Se combinan con un ligando, mejorando la selectividad, internalización celular y el paso a través de la BHE (fig. 13), un ejemplo son LP que encapsulan Paclitaxel y DOX funcionalizados con Tf y Tat o dando lugar a sistemas multifuncionales [10].

Los nanosistemas conjugados con **LDL** son biocompatibles y no inmunogénicos. Están sobreexpresados en varios tumores, en un estudio se observó que el 5 FU encapsulado en NPs con LDL se acumula selectivamente en el hígado. Además, las NPs funcionalizadas en la superficie con la apolipoproteína E (Apo E) cruzan la BHE [10]

Otro ligando son las **integrinas** que se encuentran sobreexpresadas en tumores. Se emplea el tripéptido Arg-Gly-Asp (RGD) para la vectorización a integrinas alfa-v-beta 3 y 5 involucradas en la angiogénesis. Se han realizado estudios para la administración de cisplatino en LP en modelos de cáncer de próstata, y de NPs de albúmina con Gemcitabina para el cáncer pancreático en ratones, los resultados mostraban una mayor internalización celular y citotoxicidad del fármaco encapsulado [10]

También los **anticuerpos monoclonales** (mAb), dando lugar a inmuno-NPs, por ejemplo, NPs de quitosano con EGFR, encapsulando siRNA frente Mad2, esencial para la mitosis en cáncer de pulmón. El resultado fue un silenciamiento efectivo de Mad2 causando la apoptosis. [26], la

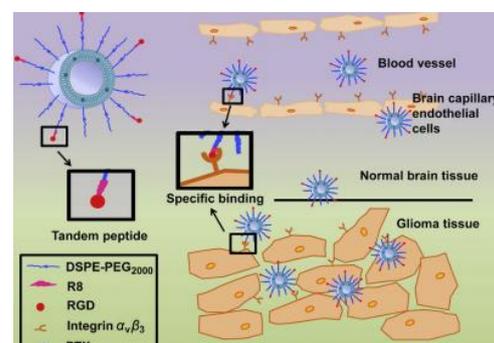


Fig 13. Ejemplo de vectorización a SN, para tratamiento antitumoral, empleando la estrategia de un CPP y un ligando de integrinas conjugados a un LP, tras la unión por el RGD eran transportados a través de la BHE, y se acumulan en el glioma (Fernández-Medarde, A, *et al.* 2015) [34]

conjugación de anti-Her2 mAb a la superficie que incrementa la acumulación en el tumor, mayores efectos citotóxicos con menores concentraciones de PTX [13]

En cuanto a los **carbohidratos**, los grupos glicano de la superficie celular presentan un papel importante en procesos fisiológicos. Además, su estructura o expresión está modificada en alteraciones como el cáncer. Esta vectorización se denomina "glicovectorización", que confiere estabilidad, mayor tiempo de circulación y permite alcanzar alta eficacia [10,25].

Ligando	Tipo de receptor	Célula diana	Vector	Aplicación
Manosa	Receptor de Manosa	Célula dendrítica	Liposomas	Vacuna de DNA que induce una respuesta antitumoral más duradera
Fucosa	Receptor L-fucosa	Células pancreáticas	Liposomas	Vectorización de cisplatino a células tumorales pancreáticas. Eficiente inhibición del crecimiento tumoral
Galactosa	Receptores de Asialoglicoproteína	Células hepáticas	Liposomas	Vectorización hepática. Incrementa el efecto antiproliferativo de la DOX

Tabla 4. Algunas estrategias para vectorizar a células tumorales mediante glicosilación [25]

Los **receptores de folato** están sobreexpresados en la mayoría de tumores mientras que están muy limitados en estructuras sanas. El ácido fólico es una molécula pequeña y estable, no inmunogénica y da lugar a una unión de elevada afinidad al receptor de folato incluso tras la conjugación.

Un ejemplo es vectorización de nanogeles mediante ácido fólico a células tumorales encapsulando 5-FU y Tamoxifeno, en cultivos celulares de cáncer de mama. Son sensibles a la T^a ($> 33^{\circ}\text{C}$) y pH, hinchándose a pHs ácidos y obteniendo, por una parte, la internalización tras el reconocimiento del ácido fólico, y por otra, el hinchamiento en el interior celular al formarse el endosoma y como consecuencia, la liberación del agente.[2]

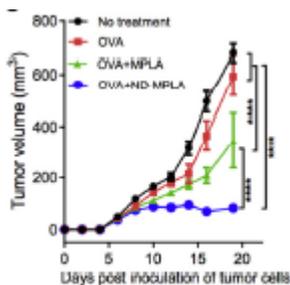
Un ligando muy investigado son los **aptámeros**, son moléculas cortas de DNA o RNA que presentan alta afinidad y especificidad por sus dianas y una internalización más eficiente que los anticuerpos debido a su menor tamaño. Hay numerosas dianas de aptámeros como antígenos glicoproteicos transmembrana (PMSA), receptores de la superficie celular y proteínas intracelulares [27]

La vectorización dual a marcadores tumorales específicos para terapia y diagnóstico constituido por RGD cíclico (para $\alpha\beta$ 3integrinas) y el aptámero AS1411 (para nucleolina sobreexpresada en el citoplasma y núcleo de células tumorales) conjugadas a NPs funcionalizadas con tinte fluorescente, junto con la unión de DOX mostraba una elevada afinidad, penetración tumoral profunda y una mejor actividad antitumoral [27]

Otra estrategia consiste en el empleo de **nanocuerpos**, que se basan en los fragmentos variables de las cadenas pesadas de anticuerpos, presentan un pequeño tamaño (4 nm de largo y 2.5 de ancho), bajo peso molecular, resistencia química y térmica, alta solubilidad, estabilidad, especificidad, afinidad y no inmunogenicidad. Los más estudiados son nanocuerpos EGFR conjugados a NPs de albúmina que presentan elevada actividad antitumoral y reducción de resistencias. [28]

Para la **vectorización nuclear** se emplean NPs con tamaños pequeños y capacidad de funcionalización y, como ligando, secuencias de localización nuclear (péptido Tat). Aquellas con un tamaño inferior a 9 nm pueden penetrar y acumularse en el núcleo. Es difícil encontrar el balance entre penetración ($< 9\text{nm}$) y mayor circulación (tamaño superior) [29]

La mayor novedad para terapia oncológica consiste en **nanovacunas**, donde varios sistemas están siendo desarrollados, dando lugar a una mayor liberación del antígeno a las células dendríticas (CD), y



habilidad de controlar la liberación. Los más investigados son micelas poliméricas, NPs poliméricas, inorgánicas y LP [30]

Se ha comprobado que combinaciones de agonistas del receptor TLR inducen sinérgicamente la activación inmune, de forma que el monofosforil lípido A (MPLA) agonista del TLR4 y CpG del TLR9, pueden ser cargados en nanodiscos, dando lugar a un sistema que puede ser combinado con subunidades antigénicas [31].

Figura 14. El nanosistema adicionado con Ovoalbúmina da lugar a respuestas humorales y celulares más fuertes, con una alta eficacia terapéutica contra tumores (Kuai, R, *et al.* 2018) [31]

En un estudio reciente se ha evaluado la administración de conjugados poliméricos con ácido hialurónico (HA) unido a PEG a través de un espaciador escindible de metaloproteína 9 (MMPS9), y ovoalbúmina (OVA) como antígeno. El sistema se basa en la retirada de la corona de PEG en presencia de MMP9 y la afinidad de unión entre HA y su receptor (CD44), resultando en una alta eficacia antitumoral tras su administración sistémica en ratones con tumores. Las MMPS presentan un papel en el tumor siendo una característica para diferenciar entre tejidos tumorales y sanos [32].

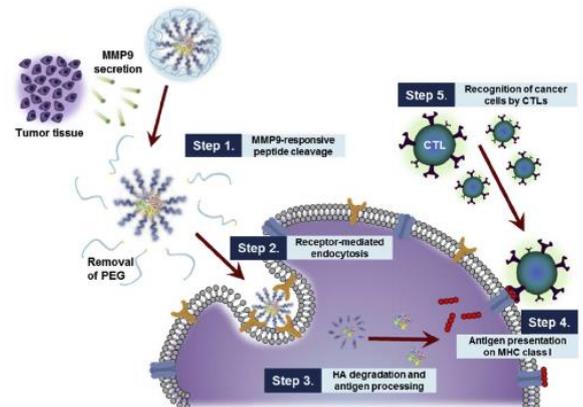


fig. 15 Inmunoterapia (Shina, J.M, *et al.*2017) [32]

5.6.2. Acceso a Sistema Nervioso (SN)

La BHE presenta un transporte selectivo de moléculas al cerebro, esto supone el principal impedimento para los agentes terapéuticos. Para solventar esto y liberar la molécula en el interior del SNC se emplearon intervenciones invasivas y técnicas para incrementar la permeabilidad con efectos adversos elevados. [33]

La manera de sobreponerse a estas limitaciones se trata del empleo de nanovectores biodegradables, no tóxicos, con un tamaño de partícula de 100 nm, un elevado tiempo de circulación sanguínea y un ligando para vectorizar. Tras la interacción se induce la endocitosis en una vesícula de transporte intracelular y cruza el endotelio para ser liberado en el cerebro.

Algunos de los ligandos para cruzar la BHE (fig.15) se describen para terapia oncológica. El mejor caracterizado es la transferrina para la internalización de agentes **antitumorales**, aunque en estudios recientes se ha visto que la vectorización a cerebro es superior conjugando Lf. Los principales vectores empleados son los liposomas, NPs poliméricas y NPs lipídicas, que han dado resultados satisfactorios *in vitro*. [33,35], así como el empleo de los CPP que mejora la internalización a SN. Se ha investigado para su empleo en patologías como el **Alzheimer (A)** y **Parkinson (P)**, para aumentar la BD y la fracción de fármaco acumulado en el área afectada y minimizar su degradación periférica [35]; La mayor parte son NPs de PLGA conjugadas con quitosano, debido a su mucoadhesividad, pequeño tamaño, alta permeabilidad a través de la mucosa nasal y un bajo aclaramiento mucociliar, encapsulando Rivastigmina(A) o Bromocriptina (P) y aumentando la BD e internalización cerebral [35].

Favorecer el acceso a SN se ha conseguido mediante la vectorización, sin embargo, su aplicación a patologías específicas (A y P) todavía debe optimizarse ya que los estudios son limitados. Actualmente en estas patologías está ganando interés la vía nasal, donde NPs, LP y SLN han mostrado buenos resultados en estudios preclínicos debido al rápido acceso al cerebro [34]. Debe determinarse la toxicidad de estos nanosistemas, pero debido a los efectos de las otras técnicas, la vectorización a esta zona puede ser una solución adecuada.

5.6.3. Administración oral:

La vía oral es la más aceptable debido a la seguridad y facilidad para el paciente, sin embargo, está limitada para fármacos poco hidrosolubles, y/o poco permeables (clasificación II y IV de la BCS respectivamente).

Supone un reto para la administración de macromoléculas (proteínas y péptidos) debido a la inestabilidad en el medio ácido gástrico, a las enzimas y la incapacidad de penetrar las barreras mucosas y epiteliales.

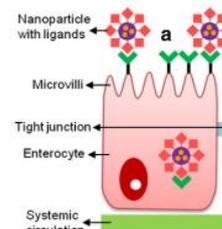


Fig 16. Transporte de NPs para administración oral de agentes (Yun, Y, *et al.* 2013) [36]

Los ligandos más empleados para alcanzar la absorción oral son, aminoácidos, oligopéptidos y vitaminas, que dan lugar a una absorción a través del transporte activo mediado por receptor.

Ligando	Diana	Vector	Cél. Diana	P.A
Biotina		Liposomas	Enterocitos	Insulina
Vit. B12		NPs	Enterocitos	Insulina
Galactosa	Receptor de Galactosa	NPs	MCFs	siRNA
Ácido hialurónico	Receptor CD44	NPs	Cel. Tumorales	DOX

Tabla 4. Ligandos para vectorización intestinal [37]

Se han realizado estudios para la administración oral de insulina empleándose NPs que producen un efecto hipoglucémico controlado y mantenido. Para las nanoformulaciones se emplea el quitosano debido a su mucoadhesividad, biocompatibilidad y capacidad de establecer uniones con la carga negativa del ácido siálico de la mucina y el Eudragit® debido a la protección del medio ácido gástrico. [37]

Las lectinas son proteínas que se unen a receptores de carbohidrato de los enterocitos y de la capa de mucus, su conjugación a NPs poliméricas incrementa el transporte a través de la mucosa intestinal, se han estudiado cargadas con insulina, alcanzando la absorción intestinal de glucosa necesaria para disminuir los niveles en sangre [37]. También se ha alcanzado un efecto hipoglucémico y alta BD oral en ratas mediante NPs-PEG modificadas con butirato (metabolito de la microbiota, estable e hidrófilo), mediante su interacción con el transportador de ácidos monocarboxílicos y la consecuente absorción intestinal a nivel del íleo. [38]

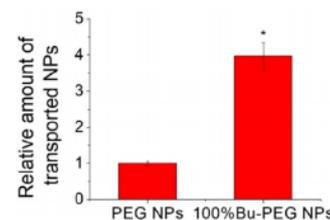
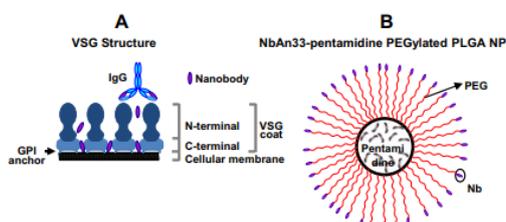


Fig. 17 Cantidad de NPs transportadas tras la incubación con células durante 8h. (Wu, L, *et al.*2017)[38]

La vectorización activa supone una oportunidad para la administración de este tipo de moléculas mediante la interacción de los ligandos con los receptores expresados en los enterocitos, que llevan a la internalización celular, alcanzando la BD y protección de las moléculas. [36]

El control morfológico y conocer el transporte través del tracto gastrointestinal es esencial para el desarrollo de sistemas eficientes para la administración oral y principalmente al tratarse de insulina.

5.6.4. Otras aplicaciones:



Antiparasitaria (fig.18) mediante el empleo de nanocuerpos que vectorizan a la superficie de *Trypanosoma brucei*. El

Fig 18. A. Reconocimiento de un epítipo glucídico de oligomanosa conservado del resto GPI de la proteína de superficie, por el nanocuerpo. B. Nanosistema (Arias, J.L, *et al.*2015 [33].

nanosistema se basa en NPs esféricas de PLGA pegiladas

funcionalizadas con un nanocuerpo y encapsulando pentamidina, el principal requerimiento es un pequeño tamaño para acceder al bolsillo flagelar (única localización para la endocitosis).

La terapia in vivo demostró que la formulación curó a todos los ratones infectados con una dosis menor que la mínima curativa de la pentamidina libre. La liberación de Pentamidina es pH dependiente y presenta un perfil bifásico con una liberación inicial rápida (45% en 12h a pH 7.4 y 35% en 1 hora a pH 5) seguida de una fase más lenta durante un periodo de 11.5 días a pH 7,4) [27]

Terapia antimicrobiana mediante "nanoantibióticos" que se basan en NPs de sílica mesoporosa decoradas con dendrímeros de 3ª generación y cargando levofloxacin que permitió una internalización efectiva en bacterias Gram -, el LEVO se liberaba en dosis antimicrobianas efectivas y se observó un efecto antimicrobiano frente biofilms.[39]

En **terapia antiviral** los ligandos anti-VIH, son LDL (reconocidas por receptores scavenger expresados específicamente en macrófagos y son internalizadas mediante endocitosis) o mediante Ac (inmunoliposomas anti-CD4 con nevirapina y saquinavir). Los resultados son la inhibición de la proliferación viral a una menor concentración que libres, y un mayor tiempo de circulación por el organismo y así alcanzar la máxima unión a virus. [5,19]

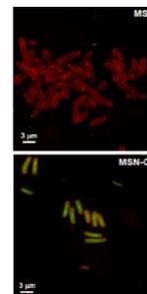


Fig.19. Internalización del nanosistema marcado en E.Coli (González, B, et al. 2018) [39]

Discusión final

El conocimiento sobre el control morfológico y su importancia para optimizar los vectores activos está bien determinado y debe permitir los 3 pasos del vector activo: absorción, distribución e internalización celular. A pesar de las limitaciones sus ventajas solventan los inconvenientes de los fármacos libres, protección, solubilidad y selectividad.

Sin embargo, hay que continuar investigando para optimizarlos principalmente a nivel biológico, disminuyendo la toxicidad y el acceso único a células alteradas ya que, referido a los ligandos empleados en terapia oncológica, los receptores sobreexpresados en estas células también se encuentran en sanas.

En general todos los nanovectores presentan características comunes, sin embargo, los poliméricos son los que predominan, debido a que son capaces de sobreponerse a limitaciones de liposomas, teniendo mayor estabilidad in vivo y capacidad de almacenamiento.

Hay que tener en cuenta la selección del vector adecuado para funcionalizarlo y su compatibilidad con la molécula a encapsular, siendo los parámetros críticos la el número y conjugación de los ligandos aunque hay varias técnicas para disminuir reacciones no deseadas, todavía hay que optimizarlas.

La vectorización activa con NPs han dado lugar a resultados prometedores en estudios preclínicos, sin embargo, muy pocos de ellos se encuentran en estudios clínicos. A pesar de que los resultados obtenidos a nivel humano no son concluyentes, estos sistemas dan lugar a prometedoras formas de tratamiento en numerosas patologías.

6. CONCLUSION:

El **control morfológico**, no solo presenta un papel **determinante** en la eficacia del nanosistema, sino también de la toxicidad. Entender y controlar esto, así como los mecanismos de internalización son cruciales para la optimización y diseño de los vectores activos de nueva generación.

Optimizar el número de ligandos, su **orientación y conjugación** es **crítico** para el desarrollo de nanosistemas activos eficaces y no siempre es equivalente a aumentar el número de ligando en el nanosistema.

La amplia variedad de dianas descubiertas y ligandos susceptibles de emplearse así como la gran cantidad de vectores con capacidad de encapsular y aplicarse en la clínica, hace que la vectorización tenga una amplia perspectiva futura. Siendo los CPP, aptámeros, CH y nanocuerpos los que otorgan mayor perspectiva y versatilidad.

Los vectores activos presentan **numerosas aplicaciones**, el mayor campo de estudios es en el cáncer, donde cada vez hay un mayor conocimiento de dianas específicas, y acceso a SN debido a las limitaciones e inconvenientes actuales, sin embargo, las investigaciones abarcan numerosas patologías, obteniendo resultados **prometedores**, con terapias más selectivas, menos tóxicas y administración simultánea de moléculas activas.

7. **BIBLIOGRAFÍA**

- [1]. Vila Jato, J.L. Nanotecnología: realidades y posibilidades terapéuticas. Madrid: Instituto de España, Real Academia Nacional de Farmacia; 2009.
- [2] Li, D, Van nostrum, C.F, Mastrobattista, E, Vermonden, T, Hennink, W.E. Nanogels for intracellular delivery of biotherapeutics. *Journal of Controlled Release* .2017;259: 16-28.
- [3]. Lutful amin, M.D, Yeon joo, J, Kee yi, D, Soo a an, S, C farokhzad, O. Surface modification and local orientations of surface molecules in nanotherapeutics. *J.Controlled Release* . 2015;207: 131-142.
- [4]. Alvarez-lorenzo, C, Concheiro, A, Kee yi, D, Soo a an, S, C farokhzad, O. Bioinspired drug delivery systems. *Current Opinion in Biotechnology*. 2013;24: 1167-1173.
- [5]. Rizvi, S.A.A, Saleh, A.M. Applications of nanoparticle systems in drug delivery technology. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2018;26(1): 64-70.
- [6]. S williams, D, Ab pijpers, I, Ridolfo, R, Cm van hest, J, Hennink, W.E. Controlling the morphology of copolymeric vectors for next generation nanomedicine. *Journal of Controlled Release*. 2017;259: 29-39
- [7]. Bertrand, N, Wu, J, Xu, X, Kamaly, N, C farokhzad, O. Cancer nanotechnology: The impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2014;66: 2-25.
- [8]. Shiraishi, K, Kawano, K, Maitani, Y, Aoshi, T, Ishii, Ken.J, Sanada, Y, et al. Exploring the relationship between anti-PEG IgM behaviors and PEGylated nanoparticles and its significance for accelerated blood clearance. *J. Controlled Release*. 2016;234: 59-67.
- [9]. Cutrone, G, Mcasas-solvas, J, Vargas-berenguel, A. Cyclodextrin-Modified inorganic materials for the construction of nanocarriers. *International Journal of Pharmaceutics* . 2017;531: 621-639.
- [10]. Bahrami, B, Hojjat-farsangi, M, Mohammadi, H, Anvari, E, Ghalamfarsa, G, Yousefi, M, Jadidi-Niaragh, F. Nanoparticles and targeted drug delivery in cancer therapy. *Immunology Letters*. 2017;190: 64-83.
- [11]. Summers, H.D, Ware, M.J, Majithia, R, Meissner, K.E, Godin, B. Multiscale benchmarking of drug delivery vectors. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2016;12(7): 1843-1851.
- [12]. Yamashita, F, Hashida, M, Meissner, K.E. Pharmacokinetic considerations for targeted drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2013;65: 139-147.
- [13]. Fernández-Medarde, A, Pérez-Herrero, E. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. *European journal of pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2015; 93: 52-79.
- [14]. Hassanzadeh , P, Atyabi, F, Dinarvand, R. Linkers: The key elements for the creation of efficient nanotherapeutics . *Journal of Controlled Release*. 2018;270: 260–267
- [15]. Merino, M, Zalba, S, Garrido, M.J. Immunoliposomes in clinical oncology: State of the art and future perspectives. *J. Controlled release* . 2018;275: 162-176.
- [16]. Eloy, J.O, Petrilli, R, Noboru fatori trevizan, L, Chorilli, M. Immunoliposomes: A review on functionalization strategies and targets for drug delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2017;159: 454-467.
- [17]. Ma, X, Fenga, H, Lianga, C, Ljua, X, Zenga, F, Wang, Y. Mesoporous silica as micro/nano-carrier: From passive to active cargo delivery, a mini review. *J. Materials Science & Technology*. 2017;33: 1067-1074.
- [18]. Deshmukh, A.S, Chauchan, P.N, Noolvi, M.N, Chaturvedi, K, Ganguly, K, Shukla, S.S, et al. Polymeric micelles: basic research to clinical practice. *International Journal of Pharmaceutics*. 2017;532: 249-268.
- [19]. Zhan, H, Jagtiani, T, Liang, J.F. A new targeted delivery approach by functionalizing drug nanocrystals through polydopamine coating. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2017;114: 221-229.

- [20]. Caoduro, C, Hervouet, E, Girard-thernier, C, Gharbi, T, Boulahdour, H, Régis Delage-Mourroux, R, et al. Carbon nanotubes as gene carriers: Focus on internalization pathways related to functionalization and properties. *Acta Biomaterialia* . 2017;49: 36-44.
- [21]. Natfji, A.A, Osborn, H.M.I, Greco, F. Feasibility of polymer-drug conjugates for non-cancer applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2017;31: 51-66.
- [22]. Kesharwani, P, Gothwal, A, Iyer, A.K, Jain, K, Chourasia, M.K, Gupta, U. Dendrimer nanohybrid carrier systems: an expanding horizon for targeted drug and gene delivery *Drug discovery today. Drug Discovery Today*. 2018;23(2): 300-314.
- [23]. Gaber, M, Medhat, W, Hany, M, Saher, N, Fang, J, Elzoghby, A. Protein-Lipid nanohybrid as emerging platforms for drug and gene delivery: challenges and outcomes. *J. Controlled Release*. 2017;254: 75-91
- [24]. Xul, X, Ho, W, Zhang, X, Bertrand, N, Farokhzad, O. Cancer nanomedicine: from targeted delivery to combination therapy. *Trends in Molecular Medicine*. 2015;21(4): 223-232.
- [25]. Cai, L, Gu, Z, Zhong, J, Wen, D, Chen, G, Hen, L, Wu, J, Zhen, G. Advances in glycosylation-mediated cancer-targeted drug delivery. *Drug Delivery Today*. 2018; 23(5): 1126-1138.
- [26]. Kennedy, P.J, Oliveiraa, C, Granja, P.L, Sarmiento, B. Antibodies and associates: Partners in targeted drug delivery. *Pharmacology & Therapeutics*. 2017;177: 129-145.
- [27]. Mokhtarzadeh, A, Tabarzad, M, Ranjbari, J, De la guardia, M, Hejazi, M, Ramezani, M. Aptamers as smart ligands for nano-carriers targeting. *Trends in Analytical Chemistry*. 2016;82: 316-327.
- [28]. Alibakhshi, A, Abarghooi kahaki, F, Ahangarzadeh, S, Yaghoobib, H, Yarian, F, Arezumand, R, et al. Targeted cancer therapy through antibody fragments-decorated nanomedicines. *Journal of Controlled Release*. 2017;268: 323-334
- [29]. Ma, X, Gong, N, Zhong, L, Sun, J, Liang, X.J. Future of nanotherapeutics: Targeting the cellular sub-organelles. *Biomaterials* . 2016;97: 10-21.
- [30]. Saa, S, Alsaaba, H.O, Bhisea, K, Alzhrania, R, Nabila, G, Iyera, A.K. Multifunctional nanoparticles for cancer immunotherapy: A groundbreaking approach for reprogramming malfunctioned tumor environment. *J. Controlled Release*. 2018;274: 36-44
- [31]. Kuai, R. *Journal of Controlled Release*. [Online]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.04.041> [Accessed 30 May 2018].
- [32]. Shina, J.M, Ohb, S.J, Kwona, S, Deepagana, V.G, Leea, M, Songa, S.H, et al. A PEGylated hyaluronic acid conjugate for targeted cancer immunotherapy. *J. Controlled Release*. 2017;267: 181-190
- [33]. Arias, J.L, Unciti-broceta, J.D, Maceira, J, Del castillo, T, Hernández-Quero, J, Magez, S, et al. Nanobody conjugated PLGA nanoparticles for active targeting of African Trypanosomiasis. *J. Controlled Release*. 2015;197: 190-198
- [34]. Gao, H. Progress and perspectives on targeting nanoparticles for brain drug delivery. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2016;6(4): 268-286.
- [35]. Md, S, Bhattmisra, S.K, Zeeshan, F, Shahzad, N, Mujtaba, M.A, Srikanth Meka, S, et al. Nano-carrier enabled drug delivery systems for nose to brain targeting for the treatment of neurodegenerative disorders. *J. Drug Delivery Science and Technology*. 2018;43: 295-310.
- [36]. Yun, Y, Cho, Y.W, Park, K. Nanoparticles for oral delivery: Targeted nanoparticles with peptidic ligands for oral protein delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2013;65: 822-832.
- [37]. Zhang, X, Wul, W. Ligand-mediated active targeting for enhanced oral absorption. *Drug Discovery Today*. 2014;19(7): 898-904.
- [38]. Wu, L, Liu, M, Shan, W, Zhu, X, Li, L, Zhang, Z, et al. Bioinspired butyrate-functionalized nanovehicles for targeted oral delivery of biomacromolecular drugs. *J. Controlled Release*. 2017; 262: 273-283.
- [39]. González, B, Colilla, M, Díeza, J, Pedraza, D, Guembea, M, Izquierdo-Barba, I, et al. Mesoporous silica nanoparticles decorated with polycationic dendrimers for infection treatment. *Acta Biomaterialia Journal*. 2018;68: 261-271