



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**TÍTULO: Formulaciones microbidas de  
administración vaginal para prevenir la transmisión  
de VIH (I)**

Autor: María Bonilla Moreno

Fecha: Junio 2019

Tutor: Roberto Ruiz Caro

## 1.- RESUMEN

El Virus de la Inmunodeficiencia Humano (VIH) representa uno de los problemas más importantes a nivel de salud pública. En 2017 se estimaban casi 38 millones de personas con esta enfermedad. Tiene una distribución mundial desigual, siendo las regiones más pobres las más afectadas, como África subsahariana, donde se estima que se concentra casi el 70% de los casos. Además, desde hace unos años más de la mitad de población afectada por el virus son mujeres. Los datos más recientes denotan que este porcentaje está en aumento ya que, la desigualdad, falta de conocimiento y violencia de género promueven la propagación de la enfermedad e infección de cada vez más mujeres jóvenes.

De esta manera el desarrollo e implantación de sistemas que sean controlados por la mujer para poder impedir el contagio de la enfermedad es primordial y prioritario. Así en los años 90 surgieron los microbicidas vaginales, un tipo de formulación que se aplica por vía vaginal o rectal con la intención de reducir la probabilidad de adquisición de enfermedades de transmisión sexual.

Su evolución a lo largo de estos años ha sido favorable desarrollándose en diferentes tipos de formas farmacéuticas (geles, anillos, comprimidos, *films*, fibras electrohiladas y nanopartículas). Aunque las primeras investigaciones se centraron en geles o anillos, hoy en día los estudios se están enfocando más al desarrollo de nanopartículas y fibras que actúan de manera más específica. Si bien los resultados obtenidos son alentadores, aún se necesitan investigaciones adicionales a fin de poder ser aplicados a la práctica clínica.

## 2.- INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

El VIH representa a día de hoy uno de los principales problemas de salud a nivel mundial. Se trata de una pandemia. En 2017 la OMS estimaba que había unos 37 millones de personas infectadas que vivían con VIH, de los cuales, 21,7 millones estaban recibiendo terapia antirretroviral. Pese a ello; el VIH supone una de las mayores preocupaciones a nivel de salud pública mundial, ya que se ha cobrado más de 35 millones de vidas hasta el momento. Solo en 2017, 18 millones de personas murieron por causas relacionadas con el VIH en todo el mundo. [1]

Esta enfermedad se reparte de manera desigual siendo la región subsahariana de África la más afectada con aproximadamente 25,6 millones de personas afectadas (un 70% del total de los casos de VIH). [2]

El VIH es un retrovirus perteneciente a la subfamilia de los lentivirus. Dentro de esta subfamilia se han identificado dos serotipos que infectan a humanos, el VIH-1 y el VIH-2, que comparten propiedades epidemiológicas, pero son diferentes desde el punto de vista geográfico. El VIH-1 es el agente etiológico del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) epidémico de África Central, Europa, EE.UU. y la mayoría de los restantes países a excepción de África Occidental donde se encuentra el VIH-2. [3]

El VIH se propaga por relaciones sexuales, transmisión vertical o contacto con ciertos líquidos corporales de una persona infectada (sangre, semen, líquido pre-seminal, secreciones vaginales y rectales; leche materna). De todas estas la transmisión sexual es responsable de la mayoría de las infecciones. [3]

Tanto el VIH-1 como el VIH-2 son virus citopáticos que actúan infectando células del sistema inmune (linfocitos CD4+) alterando o anulando su función de tal manera que a medida que pasa el tiempo se desarrolla una disfunción inmunológica que facilita la aparición de infecciones oportunistas hasta desencadenar el SIDA. [3-5]

Estructuralmente el VIH posee una envuelta esférica en la que se pueden diferenciar tres capas: una **capa externa** formado por una membrana lipídica donde se insertan las glucoproteínas gp120 y gp41. Una segunda capa constituida por una **cápside icosaédrica** formada por la proteína p24 y, por último, una **capa interna o nucleoide** que contiene dos moléculas ARN viral monocatenario, una nucleoproteína p7 y algunas enzimas virales. [6]

En cuanto al ciclo de replicación del VIH, este comienza con la unión del virus a los receptores CD4+ de ciertas células del sistema inmunitario (células T auxiliares, linfocitos y macrófagos). La unión viral se produce a través de las proteínas de la envoltura gp120, tras la cual interactúa con otra proteína en la superficie de la célula huésped (CCR5 o CXCR4) lo cual da como resultado la fusión de la envoltura viral con la membrana citoplásmica de la célula huésped. Así, el virus libera su material genético en el interior de la célula huésped. Una vez en el interior celular, el genoma del VIH monocatenario de ARN se transcribe de forma inversa a ADN de doble hebra mediante la enzima transcriptasa inversa. [3]

Este ADN proviral se transporta al núcleo de la célula huésped y se integra con el genoma huésped, mediante una integrasa. Así consigue el genoma viral transcribirse y traducirse en nuevas proteínas virales utilizando la maquinaria de la célula infectada. Finalmente, las partículas virales se ensamblan y se liberan lentamente de la célula huésped infectada mediante un proceso conocido como "gemación". [4]

Sin tratamiento contra el VIH, la infección evoluciona en tres fases y empeora con el transcurso del tiempo.

La primera fase es conocida como **infección aguda** que se caracteriza por una rápida multiplicación del virus, diseminación y destrucción de linfocitos CD4+. Se suele manifestar en un lapso de 2 a 4 semanas después del contagio pudiendo producir síntomas similares a los de una gripe. Durante esta fase la concentración de ese virus en la sangre es muy alta, lo cual aumenta considerablemente su riesgo de transmisión.

El segundo periodo lo constituiría la **infección crónica** del VIH o fase de latencia clínica. En esta, el VIH se reproduce por el cuerpo, pero en concentraciones muy bajas, sin dar lugar normalmente a ninguna sintomatología. Sin tratamiento antirretroviral suele evolucionar a SIDA en unos 10 años.

Finalmente, la fase más severa es conocida como **SIDA**. Puesto que el virus ha destruido el sistema inmunitario, el cuerpo no puede luchar contra las infecciones oportunistas y el cáncer. Se produce si tienen CD4+ en una concentración menor de  $200/\text{mm}^3$ , o si presentan ciertas infecciones oportunistas. Sin medicación, por lo general, las personas con SIDA sobreviven unos 3 años. [7]

No hay cura para esta infección, sin embargo, los fármacos contra el VIH comúnmente denominados antirretrovirales (ARV) pueden controlar el virus, ayudar a prevenir la transmisión y evitar que el VIH avance de una etapa a otra. De esta manera, los AVR suponen una ayuda para las personas con VIH para disfrutar de una vida más larga y sana. [7]

Los fármacos contra el VIH están agrupados en siete clases según la forma en la que combaten dicha infección.

1. *Inhibidores de la entrada o antagonista CCR5*: Maraviroc.
2. *Inhibidores de la fusión*: Efavirtida.
3. *Inhibidores de la transcriptasa inversa*:
  - a. *Inhibidores de la transcriptasa inversa análogo de los nucleósidos (ITIAN)*: Abacavir, Emtricitabina, Lamivudina, Tenofovir, Zidovudina.
  - b. *Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos (ITINN)*: Doravirina, Efavirenz, Dapivirina, Nevirapina, Rilpivirina.
4. *Inhibidores de la proteasa (IP)*: Atazanavir, Darunavir, Fosamprenavir, Ritonavir: Saquinavir, Tirapranavir
5. *Inhibidores de la integrasa (INI)*: Dolutegravir, Bictegravir, Raltegravir
6. *Inhibidores de post-fijación*: Ibalizumab-uiyk (bloquea los receptores CD4 de ciertos inmunocitos con VIH)
7. *Potenciadores farmacocinéticos*: Cobicistat, Ritonavir.

El tratamiento antirretroviral (TAR) consiste en el uso de fármacos contra el VIH para tratar dicha infección. Se recomienda, para todas las personas con el VIH y por lo general el régimen de tratamiento inicial de dicha infección, tres o más fármacos de por lo menos dos clases diferentes.

Las combinaciones recomendadas para el TAR inicial, incluyen las siguientes asociaciones de fármacos: 2 ITIAN+1 INI, 2 ITIAN+1 ITINN o 2 ITIAN+1 IP (potenciado con Colbicistat o Ritonavir). [7]

Actualmente, el Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA) tiene como objetivo marcado para 2020 garantizar que los millones de personas que viven con el VIH tengan acceso a tratamiento cumpliendo con los objetivos 90–90–90.

Estos objetivos son:

- 1- Que en 2020 el 90% de las personas que viven con el VIH conozcan su estado serológico respecto al VIH.
- 2- Que en 2020 el 90% de las personas diagnosticadas con el VIH reciban TAR continuada.
- 3- Que en 2020 el 90% de las personas que reciben TAR tengan supresión viral. [8]

En este sentido, ONUSIDA desde hace años trabaja en la implantación de medidas de profilaxis pre-exposición al virus (PrEP) en los colectivos de mayor riesgo de contagio. [9]

Atendiendo a los datos de la OMS, de las 37 millones de personas infectadas actualmente por VIH más de la mitad son mujeres. Además, desde hace un tiempo representan una proporción creciente entre las personas que contraen el virus. Son uno de los grupos más vulnerables a ser infectados por el VIH por razones biológicas (cambio del pH vaginal al mantener relaciones sexuales, la anatomía mono estratificada del endocervix con alto número de leucocitos susceptibles a ser infectados por VIH así como la mucosa vaginal desprovista de mecanismos de defensa contra esta infección); y socioculturales como las relaciones no consentidas especialmente en los países de bajo nivel de desarrollo ya que la falta de educación y protección social promueve la violencia sexual así como la ausencia del uso del preservativo. [2]

Cada vez los datos son más preocupantes ya que cuatro de cada diez nuevas infecciones se dan entre mujeres de 15 a 24 años. Por ello; uno de los compromisos establecidos para 2020 por ONUSIDA supone la eliminación de las desigualdades de género y erradicación de la violencia y discriminación contra más mujeres y niñas que padecen la enfermedad.

La conjunción de estos factores, hacen que exista una creciente necesidad de desarrollar un método de prevención del VIH única y exclusivamente controlado por la mujer. [14] Así surgieron en la época de los noventa, las formulaciones microbicidas de aplicación vaginal frente al VIH.

### **3.- OBJETIVOS**

El objetivo de este trabajo es recopilar toda la información disponible hasta el momento sobre formulaciones microbicidas de administración vaginal frente al VIH mediante una revisión bibliográfica. Evaluar la misma y describir la evolución que han tenido este tipo de formulaciones, reseñar sus características principales, así como establecer en el punto en el que se encuentran actualmente y hacia donde se dirigen las líneas de investigaciones más prometedoras.

### **4.- MATERIAL Y MÉTODOS**

Se ha realizado una revisión bibliográfica exhaustiva de publicaciones científicas sobre formulaciones microbicidas de aplicación vaginal para la prevención del VIH en la base de datos online Pubmed, ScienceDirect, página web oficial ONUSIDA y la organización de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA.

Con toda la información obtenida se ha realizado un análisis de los resultados de los diferentes ensayos realizados con estas formulaciones a lo largo del tiempo, para finalmente describir como han ido avanzando los estudios de los mismos así como la situación desde la que se enfocan para el futuro.

### **5.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los microbicidas son compuestos que se aplican por vía vaginal o rectal con la intención de reducir la probabilidad de adquisición de enfermedades de transmisión sexual (ETS). El microbicida vaginal ideal debe tener actividad contra el VIH en su forma libre y una vez asociado a células. No debe causar daño al tejido o flora de la vagina y debe mantenerse en la vagina, actuar localmente y conservar su actividad en presencia de semen y en un amplio rango de pH. [14]

Existen varios mecanismos por los cuales los microbicidas vaginales del VIH pueden prevenir la infección por VIH: [15]

1. Destruyendo el virus tan pronto como ingrese a la vagina.
2. Manteniendo el pH de la flora vaginal.
3. Previendo la unión del VIH a los receptores CD4.
4. Impidiendo el proceso de replicación del VIH.
5. Proporcionando una barrera física que impida que el VIH ingrese a la mucosa vaginal.
6. Mediante la prevención de infecciones de transmisión sexual (ITS) ya que estas aumentan la posibilidad de infección por VIH.

7. Reforzando las defensas naturales de cuerpo.
8. Inhibiendo la replicación viral.

Dentro de la función considerada para un microbicida, se han considerado diferentes formas farmacéuticas para llevar a cabo la PreP del VIH.

### **1.- GELES**

Las primeras formas farmacéuticas estudiadas con el fin de PreP fueron los **geles**.

Se trata de la formulación más estudiada para el desarrollo de microbicidas vaginales ya que tienen la ventaja de ser fácilmente y convenientemente aplicables por las mujeres lo que promueve un aumento a la adherencia al tratamiento además de su bajo coste de fabricación. Sin embargo; no retienen el fármaco y no siempre proporcionan una liberación sostenida del mismo a lo largo del tiempo. Requieren de un aplicador y son inestables en condiciones ambientales adversas. [12] Los podemos clasificar en distintos grupos dependiendo del tipo de principio activo que contengan.

Los primeros estudiados fueron los que contenían *surfactantes* o *tensioactivos*. [12]

Este es el caso del gel de **Nonoxynol-9** (N-9); sustancia virucida y espermicida que actúa disminuyendo la tensión superficial del patógeno y provocando su muerte antes de entrar en contacto con la mucosa vaginal. Si bien en los primeros estudios *in vitro* y en macacos este gel parecía dar buenos resultados, en la prevención contra el contagio del VIH finalmente, resultó en ensayos clínicos con mujeres sanas que el N-9 aumentaba la incidencia de lesiones genitales como úlceras vaginales (aumentando el riesgo de infección) y no demostraba la efectividad adecuada en la prevención del VIH o ITS. [13]

Más tarde se desarrolló otro gel microbicida **SAVVY gel®** que contenía como surfactante **C31G** (una mezcla de dimetilglicina + óxido de dietilamina) que, aunque resultó ser menos citotóxico que el N-9, al realizar ensayos con el mismo no se obtuvieron resultados concluyentes sobre su eficacia frente a la prevención del VIH. [14]

Otro tipo de candidatos para estos hidrogeles fueron los *polianiones* que actúan inhibiendo el VIH al impedir que el patógeno ingrese en las células ya que neutralizan los receptores gp120 virales mediante su alta presencia de cargas negativas. Dentro de este segundo grupo encontramos el **Carraguard®** cuyo principio activo es el **carragenano** (mezcla de lambda y kappa carragenano obtenido de algas marinas). Esta sustancia inhibe la penetración del virus formando una especie de revestimiento en la vagina gracias a su propiedad mucoadhesiva.

Las primeras formulaciones de este gel se desarrollaron para ser aplicadas 1 hora antes de las relaciones sexuales. Los ensayos realizados demostraron seguridad y capacidad para reducir el riesgo de transmisión del virus del papiloma humano (VPH) así como del VIH siendo el único gel utilizado para prevenir varias ETS. Pero cuando los ensayos pasaron a fase II el Carraguard® no mostró eficacia como profiláctico contra el VIH. Sin embargo, puede resultar útil como gel portador de fármacos antirretrovirales ya que obtuvo una alta aceptación entre mujeres [15]

Por otro lado, dentro del grupo de los polianiones se desarrolló el **BufferGel®**, un acidificante y gelificante que actúa como tampón, manteniendo la acidez de la vagina e inhibiendo así el contagio del VIH que en condiciones normales se ve favorecido por la basicidad del pH del semen. Si bien los resultados de los ensayos clínicos mostraron una alta seguridad de la formulación, los ensayos clínicos de fase II/Ib demostraron que la formulación carecía de

efecto sobre las bacterias causantes de vaginosis bacteriana, así como sobre la transmisión del VIH. [16]

Debido al fracaso de los anteriores estudios; las investigaciones se desviaron hacia la obtención de nuevas sustancias o moléculas que interactuaran directamente con el virus, reconociendo al VIH, uniéndose o inhibiendo su fusión.

Uno de los grandes candidatos fue el **PRO2000**<sup>®</sup>, un gel que contiene como principio activo un polímero de **naftalenosulfonato** (polianión cargado negativamente que se une a las cargas positivas de la gp120 viral, impidiendo de esta manera el reconocimiento de la proteína diana CD4+ de las células inmunes y bloqueando la entrada del virus a las células). [12]

Los ensayos realizados con el mismo demostraron actividad antirretroviral *in vitro*, *in vivo*, además de ser seguro a nivel genital y compatible con el uso de preservativos. En este ámbito; el estudio más prometedor puso a prueba el gel PRO2000 al 0,5% provocando una modesta reducción de la adquisición del VIH en mujeres un 30%. Sin embargo, estos resultados no fueron estadísticamente significativos y los hallazgos posteriores de un ensayo clínico en fase III confirmaron que el 0,5% de gel PRO2000 tiene poco o ningún efecto protector. [16]

Dentro de este grupo también se ha estudiado otro hidrogel: **VivaGel**<sup>®</sup>. Se trata de un gel de Carbopol<sup>®</sup> mucoadhesivo cuyo principio activo es un polianión (**SPL7013**-nanopolímero dendrítico) que fue diseñado especialmente para actuar como microbicida conjuntamente contra el VIH y el virus del herpes simple (VHS). Los primeros estudios realizados con este gel denotaban su tolerancia y efectividad semen y animales. Finalmente, los estudios en fase I revelaron la aparición de efectos adversos como inflamación y daño epitelial que a largo plazo podrían promover la adquisición del VIH, lo que llevó al rechazo para su uso continuado en mujeres. [17]

El **sulfato de celulosa** es otro compuesto polianiónico estudiado que se propuso para la prevención del VIH. Este principio activo se utilizó para la formulación de un hidrogel vaginal de alta viscosidad denominado **Ushercell**<sup>®</sup> que fue estudiado en humanos. Esta formulación que parecía ser segura, bien tolerada y aceptada por los participantes de los primeros estudios, no proporcionó evidencias suficientes de que impidiese la transmisión del VIH en ensayos clínicos de fase III. Es más, al igual que en el caso del **VivaGel**<sup>®</sup> 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. [18]

Debido al fracaso de todos estos geles las investigaciones se desviaron hacia el desarrollo de otro tipo de sustancias para prevenir la infección del VIH como son las lecitinas, sustancias capaces de unirse a gp120, inhibiendo así la entrada del VIH a la célula.

La **Cianovirina-N** (CV-N) es uno de los representantes de este grupo. Se trata de una proteína de cianobacterias *Nostoc elliposporum* con capacidad de inactivar de manera potente el VIH-1 y el VIH-2. Su mecanismo de acción es más complejo que los polianiones ya que la unión de la molécula a su diana no bloquea la unión de la gp120 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 [12] Los estudios realizados demostraron su efectividad en el bloqueo del VIH-1. De esta manera; se han desarrollado formulaciones con diferentes concentraciones de CV-N, dentro de las cuales los geles al 1-2% demostraban en estudios con macacos que carecían de efectos adversos además de revelar protección rectal y vaginal frente al VIH, así como seguridad y

eficacia en modelos *ex vivo* de tejido cervical, [19] teniendo así un buen candidato como gel microbicida frente al VIH-1.

Sin embargo; este principio activo tiene un proceso de obtención relativamente caro por lo que, para reducir costos se crearon plantas transgénicas (*Nicotiana tabacum* o semillas de soja) que daban lugar al CV-N. Los estudios realizados con las mismas hasta la actualidad son muy favorables ya que demuestran actividad a bajas concentraciones sin dar lugar a ningún tipo de efecto adverso. [12]

Otro tipo de hidrogeles que se han desarrollado son los que contienen principios activos inhibidores de la entrada como el **Maraviroc** (MVC). Se trata de un fármaco antagonista del receptor CCR5 ubicado en los linfocitos T. Este se une al VIH en el momento de la entrada de la célula, evitando que el VIH infecte las células y se multiplique. Sin embargo, este fármaco no es activo en todos los pacientes, ya que, en algunos sujetos, el virus usa otro receptor llamado CXCR4 para ingresar a las células. [12]

Con el fin de desarrollar un microbicida de aplicación vaginal con este fármaco, el MVC se formuló en un gel de hidroxietilcelulosa (HEC) que resultó ser altamente efectivo incluso en presencia de semen. Se realizaron ensayos con gel HEC cargado al 2,2% de MVC y al 3,3% aplicándose a ratones y monos respectivamente. En el primero de los casos se expuso a los ratones en contacto con el VIH 1 hora posterior a la aplicación siendo los resultados muy positivos ya que no se produjo ninguna seroconversión en el grupo.

El ensayo realizado con monos y gel al 3,3% denotó que sólo protegía en el caso de altas concentraciones que se conseguían en el lapso de 30 minutos y 2 horas. Por lo que se concluyó que la protección se debía en gran medida al tiempo transcurrido entre la aplicación y el contacto con el virus. [20]

Aunque todos esos geles suponían una prometedora alternativa pronto los estudios se empezaron a focalizar en geles que contenían fármacos inhibidores de la replicación viral.

Los ITIAN fueron los primeros fármacos con actividad antirretroviral probada. Dentro de los cuales uno de los fármacos más destacados es el **Tenofovir (TFV)**, principio activo que bloquea la transcriptasa inversa y evita la infección y replicación. Dado a que su actividad antirretroviral ha sido demostrada para su uso oral se probó para el desarrollo de geles microbicidas.

Las formulaciones microbicidas en gel realizadas con **TFV** demostraron eficacia antiviral *in vitro* y en modelos animales. Este gel se evaluó además en ensayos clínicos de fase III demostrando carecer de citotoxicidad en las concentraciones comúnmente utilizadas como microbicida, así como ser bien tolerado y aceptado por mujeres. Estos resultados alentadores lo situaron como un buen candidato a microbicida. Tanto es así, que el estudio CAPRISA 004 evaluó la efectividad del gel de TFV al 1% para la prevención del VIH. Los resultados revelaron que su uso vaginal antes y después del coito reduce la adquisición del virus en un 39% de las mujeres, además de demostrar un perfil adecuado de seguridad. [35] 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. [21]

Más tarde, el estudio MTN-001 comprobó que, en comparación con la dosis oral, la dosificación vaginal lograba concentraciones séricas mucho más bajas y concentraciones de tejido vaginal mucho más altas. [22]

De manera más reciente, con este mismo principio activo; se han formulados bigeles de TFV para la PreP del VIH. Estos bigeles contienen una fase oleo-acuosa y otra acuo-oleosa que mejoran tanto la disolución del principio activo en el gel como la absorción del fármaco por parte de la mucosa. Así se formularon tres combinaciones distintas de bigel con goma guar y aceite de sésamo junto con Span60<sup>®</sup> y Tween60<sup>®</sup> como excipientes. Los ensayos realizados con los mismos demostraron que la formulación con mayor proporción oleosa presentaba una mayor capacidad bioadhesiva y liberación del fármaco de forma controlada, [23] suponiendo así una alternativa interesante y prometedora frente al VIH.

Otra familia de fármacos antirretrovirales que se evaluó para la formulación de geles microbicidas fueron los ITINN. Se trata de inhibidores no competitivos que se unen al sitio alostérico en la transcriptasa inversa e inducen cambios conformacionales. Dentro de este grupo encontramos la **Dapivirina (DPV)** y **Rilpivirina** y algunos diseñados para unirse de forma específica a VIH- 1 como **MIV-150** (un derivado de urea-fenetiltiazotiltiurea) y **UC78** (una tiocarbocanilida) [12]

La **DPV** es el fármaco más estudiado dentro de esta familia. Estudios del gel que contenía DPV al 1% respaldan su actividad *in vitro* para la prevención de la infección incluso en presencia de semen y no demostraban irritación vaginal. Algunos ensayos han verificado que se obtienen concentraciones mucho más altas con la liberación vaginal del DPV que las requeridas para inhibir VIH *in vitro*, pero se necesitan más ensayos para conocer su efectividad y seguridad. [24]

Por otro lado, se realizaron estudios con monos utilizando diferentes formas farmacéuticas que contienen **MIV-150**. Así surgió el gel que combina **Carraguard<sup>®</sup> con MIV-150**. A pesar de las buenas expectativas, los ensayos *in vivo* no obtuvieron buenos resultados debido al predominio del efecto del Carraguard<sup>®</sup> frente al MIV-150. Sin embargo, el gel que contenía únicamente MIV-150 sí que se denotó potencial protector frente al VIH. [25]

También se evaluó la combinación de **acetato de zinc + Carraguard<sup>®</sup> + MIV-150** (conjuntamente denominado MZC) dando lugar a una protección pre y post coital en macacos. De nuevo; quedó demostrado que la acción antiviral del gel recaía en el MIV-150 frente a los otros dos compuestos que sólo actuaban como vehículo. [26] En esta línea de investigación destacó el estudio que comparó la eficacia del gel de MZC al 1% frente al de TFV al 1%. El estudio comparativo concluyó con una mayor actividad como AVR frente a la transcriptasa inversa en monos Rhesus por parte del gel de MZC. [27] De esta forma, el MZV se presenta como un buen candidato a microbicidas vaginal.

Actualmente, se está trabajando en una nueva línea de investigación con una molécula denominada 5P12-RANTES (análogo de la quimioquina que bloquea poderosamente el correceptor CCR5 del VIH). John W. McBride y col. desarrollaron un gel acuoso pseudoplástico de dosis única que contenía este nuevo fármaco. Los resultados clínicos obtenidos mostraron que se distribuía de forma equitativa por todo el fluido vaginal. Además, los estudios de liberación *in vitro* realizados denotaron una liberación adecuada en geles de dosis media y han demostrado estabilidad y protección frente al SVIH al ser aplicado a monos Rhesus.

Posteriormente, se decidió probar la admiración vaginal del gel de 5P12-RANTES en ovejas, denotando que concentraciones obtenidas vaginalmente del mismo demostraban ser similares a las que mostraban otros microbicidas candidatos a geles vaginales previamente. [28]

## 2.- ANILLOS VAGINALES (AV)

Dado que la efectividad del tratamiento profiláctico del VIH depende de la adherencia al mismo, las estrategias de diseño se empezaron a centrar en formulaciones de liberación sostenida cuya eficacia no dependiese en tanta medida de la aplicación por parte del usuario.

Un buen candidato para este tipo de aplicaciones es el AV; un dispositivo flexible circular polimérico que se inserta en la vagina y permite una liberación prolongada, predecible y sostenida de un componente activo en todo el compartimento vaginal. [29]

A pesar de todas las ventajas que presentan estos dispositivos, hay que tener en cuenta que los AVs requieren una mayor inversión financiera y son más complicados de manejar. Aunque este aumento en el coste podría ser compensado significativamente por la disminución en el número de aplicaciones y la mejora subsiguiente en la adherencia al tratamiento. [12]

Siguiendo los resultados obtenidos por el estudio CAPRISA 004 y puesto que el único microbicida antirretroviral que ha demostrado eficacia vaginal es el TFV se diseñaron AV que lograsen mejores resultados que los obtenidos para el gel de TFV al 1%.

Así surgieron los **AVs de silicona y poliuretano con TFV** que liberaban el fármaco durante 25-30 días (en el caso del AV de silicona) o 90 días (en el caso del AV de poliuretano). Los ensayos *in vitro* con el AV de silicona demostraron seguridad en su aplicación en monos [30].

Por otro lado, los estudios realizados al AV de poliuretano con TFV utilizaron como grupo control una población que se aplicaba el gel de TFV al 1%. Los resultados obtenidos muestran concentraciones más altas de TFV en el grupo que utilizaba el AV de poliuretano en comparación con el grupo control, de manera que este AV brindaba una protección significativa. Además, no hubo hallazgos toxicológicos y denotaba un buen perfil de seguridad y eficacia para este AV. [31]

Una alternativa a este último fueron los AVs de **Tenofovir disoproxil fumarato (TDF)**; un profármaco del TFV. Los ensayos realizados con el mismo demuestran que el compuesto inhibía el VIH en concentraciones mucho más bajas que las necesitadas por el TFV. Esto es debido a que presentaba mayor permeabilidad tisular y celular que el TFV, no se ve afectado por las proteínas seminales y su metabolito activo (TFV difosfato) tiene una larga vida media intracelular. Además, el TDF ha resultado efectivo también contra el VHS [32].

Algunas investigaciones han demostrado la eficacia de los **AVs con TDF** en macacos hembra durante 12 semanas y hasta 6 meses, obteniendo ambos estudios resultados positivos, así como la carencia de efectos adversos por parte de estos dispositivos. [34]

Al igual que con el TNF, se formularon AV con base de poliuretano cuyos ensayos en fase I revelan su seguridad y tolerancia, así como su protección frente a VIH. [33]

Debido a la facilidad de la adherencia estos dispositivos y los resultados positivos obtenidos en los ensayos; a partir de 2012, los esfuerzos se centraron en el desarrollo de AV que combinen diferentes sustancias activas con el fin de ejercer un múltiple efecto terapéutico. Se aprovechó el hecho de que el AV fuese un buen vehículo para conseguir la administración de varios fármacos de forma simultánea en unos dispositivos conocidos como “Multi purpose technology intravaginal rings” (MPT-IVR). Un ejemplo de esto es el AV que combina **TFV con Aciclovir** para inhibir de forma conjunta el virus del herpes simple (VHS) y el VIH. [34]

En este ámbito también se ha diseñado un **AV de TFV con Levonorgestrel** (progestina sintética de segunda generación utilizada como anticonceptivo) que ha sido ensayado *in vivo e in vitro* dando lugar a resultados en los que el AV liberaba los principios activos de manera

controlada en un lapso de tiempo de 90 días. Supone así una buena alternativa para evitar el contagio del VIH y a la vez evitar la posibilidad de embarazos no deseados. Sin embargo, por el momento solo se trata de un prototipo y no hay datos concluyentes sobre el mismo. [35]

Otro tipo de fármacos incluidos en estos AVs fueron los ITINN.

Inicialmente dentro de los ITINN Nel y col. desarrollaron un AV que permitiera una liberación sostenida de DPV. En los ensayos de fase I, demostró ser seguro y bien tolerado, asimismo, mostró tener un perfil de seguridad aceptable con baja absorción a nivel sistémico. Debido a los buenos resultados que ofrecieron en estos primeros ensayos, se desarrollaron AVs vaginales que liberaran DPV durante 28-30 días utilizando por un lado como base poliuretanos, siliconas y otros y, por otro lado, AV tipo reservorio o de matriz.

Es así como cuatro ensayos de fase I realizados a nivel europeo muestran seguridad y tolerancia además de liberar el fármaco durante los 28 días de forma sostenida obteniendo concentraciones de DPV mayores que la  $CI_{50}$  establecida contra el VIH. [36]

En esta misma línea, se llevó a cabo un estudio en fase III (**ASPIRE**) del **AV de DPV** en mujeres africanas que denotaba la eficacia del AV de silicona ya que redujo la infección en un 27% de las mujeres; 37% en los casos que hay mayor adherencia y 57% en mujeres de más de 21 años, además de no haber aumento de efectos adversos. [37]

En consonancia con este último estudio encontramos otro ensayo ("**The Ring Study**") cuyos resultados mostraron que el AV reducía el riesgo de adquirir VIH en un 31%.

Al igual que con los AVs de TFV; se ha tratado de desarrollar un AV vaginal de liberación prolongada que combinase la **DPV** con anticonceptivos como el **Levonorgestrel**. Los datos del estudio realizado mostraron la viabilidad de conseguir un AV tipo matriz de 60 días o un AV tipo reservorio de 90 días para la liberación simultánea de DPV y Levonorgestrel para la protección del VIH *in vitro*. [38] Actualmente formulación es la que se encuentra más avanzada de cara a su comercialización (estudio de fase III).

Dentro de los ITINN también se diseñaron AV que portaban **MIV-150**. Gracias a los buenos resultados presentados en las investigaciones del gel, se trató de diseñar un AV con los mismos principios de este y añadirle, además, propiedades anticonceptivas, formulando así la propuesta con **Carragenina, acetato de zinc, MIV-150 y Levonorgestrel**. Los ensayos realizados con el mismo demostraron potencial preventivo frente al VIH tanto *ex vivo* como en monos [39], así como frente al VHS, VPH y embarazo no deseado [40]

Otros fármacos ARV han sido formulados en forma de AV como los inhibidores de la entrada. Así surgen los AVs de **elastómero de silicona con MVC o CMPD16** (ambos inhibidores del receptor CCR5) que pretendían lograr una liberación sostenida del principio activo por 28 días. Estos AVs vaginales incluían los fármacos en forma de dispersiones micronizadas y los ensayos realizados tanto *in vitro* como *in vivo* en monos demostraban resultados positivos alcanzando concentraciones por encima del  $CI_{50}$  durante los 28 días (aunque en el caso del MVC mayores que en el de CMPD167). [39]

Al igual que en los geles, de manera más reciente se ha tratado de formular un AV de **5P12-RANTES** (un análogo de quimiocina totalmente recombinante que bloquea poderosamente el correceptor CCR5 del VIH). Así, un grupo de investigadores han diseñado un AV de silicona "de núcleo expuesto".

A la hora de realizar ensayos con el mismo, se evaluaron tres tipos de AVs demostrando que el compuesto se libera de manera estable durante 3 meses. El AV de ¼ de núcleo de longitud que

contenía 5P12-RANTES liofilizado y expuesto al medio externo por dos ventanas grandes proporcionó su máximo de concentración dentro de las 24 horas posteriores a la administración disminuyendo, progresivamente hasta los 28 días (día de la extracción del AV). Estas concentraciones superaban el valor de  $CI_{50}$  *in vitro* del compuesto. Una semana después de la extracción del AV, 5P12-RANTES era aún detectable en fluido vaginal. A pesar de los resultados alentadores en cuanto a liberación del compuesto, al compararlo con el mismo AV de DPV el porcentaje liberado del mismo resultó mucho menor. Las concentraciones séricas obtenidas estuvieron consistentemente por debajo del límite de cuantificación a diferencia de los geles vaginales de 5P12-RANTES, debido probablemente al escaso hinchamiento del núcleo. [41]

Por otro lado, un equipo de investigación conjunto de Reino Unido y Suiza utilizó esta última base para desarrollar un nuevo AV que contenía 5P12RANTES y DPV. De esta forma el primer compuesto quedaba en el núcleo del cuerpo del AV mientras que la DPV se incorporada en la vaina del AV. Los ensayos realizados con el mismo en ovejas demuestran que ambos fármacos se liberan de manera sostenida por 28 días a niveles potencialmente útiles para prevenir el VIH en mujeres. [42]

### **3.- COMPRIMIDOS VAGINALES.**

Los comprimidos vaginales son formas farmacéuticas sólidas obtenidas por compresión, tienen forma variada y orientada a facilitar su aplicación. Tienen la ventaja de ser fáciles de aplicar y económicos a la hora fabricar a gran escala, así como ser estables o poder variar su forma de absorción (disolución rápida) y las concentraciones que aporta a lo largo del tiempo (comprimidos de liberación sostenida).

Sin embargo, estas formas también 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. [12]

Los primeros comprimidos vaginales obtenidos contra el VIH fueron los de **Praneem® polyherbal** cuyo principio activo provenía del extracto purificado de *Azadirachta indica*. Sin embargo, estos no resultaron efectivos ya que los ensayos en fase I revelaron efectos adversos vaginales a largo plazo como picazón, irritación y hemorragia, llegando a la conclusión de que solo eran seguros para la administración en 14 días. [43]

Años más tarde, los comprimidos vaginales contra VIH se reformularon con fármacos AVR que habían demostrado ser eficaces en la prevención del VIH.

Se desarrollaron así los comprimidos vaginales de **TFV** solo o en combinación con **Emtricitabina**. Se trataba de comprimidos de disgregación rápida (65-70 segundos) que tenían como objetivo lograr concentraciones vaginales similares a las obtenidas con el gel de TFV al 1%. Los resultados *in vivo* en animales e *in vitro* revelaban un perfil seguro, así como efectividad a la hora de prevenir el VIH en macacos. [44]

Actualmente, Cazorla-Luna y col. han desarrollado comprimidos de pectina y quitosano que contienen TFV cuyos ensayos han mostrado perfiles de liberación del fármaco adecuados y más homogéneos que en los casos anteriormente descritos, consiguiendo de esta manera hasta 96 horas de protección. [45]

En esta misma línea de trabajo y de manera más reciente, se han estudiado **comprimidos vaginales de DPV (30mg) con polímeros naturales de pectina (290 mg)** que presentaban una alta capacidad bioadhesiva y una liberación sostenida del fármaco. Además, respecto a otros

modelos, han conseguido una reducción importante de la inflamación que producían en el área de acción, así como carecer de toxicidad. De esta manera, se presentan como una opción interesante para el desarrollo de comprimidos para la PreP al VIH [46]

Otro tipo de formulación que encontramos en este grupo son los **comprimidos vaginales y geles liofilizados con DPV** que demostraron que proporcionaban la posibilidad de una mayor retención vaginal de la dosis debido a su mucoadhesión. Sin embargo, pese a los buenos resultados, la necesidad de aplicación diaria y de una manera dependiente del coito de estos comprimidos, ha desplazado las tendencias de investigación hacia formas farmacéuticas capaces de liberar el fármaco durante varios días. [47]

Para lograr esta liberación de manera más controlada se han desarrollado **comprimidos vaginales de bomba osmótica de IQP-058** que liberan concentraciones de fármaco en la vagina durante 10 días de manera pH-dependiente. Al tratarse de una forma de liberación sostenida, la adherencia al tratamiento mejoraba, así como los resultados del mismo frente al VIH. [48] Estos novedosos comprimidos tienen un funcionamiento complejo ya que liberan una concentración estándar del compuesto de manera sostenida y en el momento que ocurre el acto sexual y el pH se modifica, el comprimido produce una mayor liberación del fármaco permitiendo así una mayor inhibición del contagio y con ello una mejora de los resultados.

Por otro lado, con el fin de conseguir una cesión sostenida de **TFV** durante un mayor periodo de tiempo, se asociaron diferentes polímeros como hidroxipropilmetilcelulosa (-HPMC- polímero de alta capacidad de gelificación), quitosano (-CH- capacidad de gelificación moderada), goma guar (GG), y Eudragit® (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 HMPC/CH ofrece un mayor tiempo de residencia vaginal (92h), de cesión sostenida del fármaco de hasta 72h. [49]

A fin de mejorar los tiempos de residencia y cesión de la dosis del fármaco, Notario Pérez y col. desarrollaron un comprimido vaginal de liberación sostenida combinando dos sistemas de control de la liberación del fármaco: una matriz polimérica hidrofílica compuesta por HMPC/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. [50]

Las últimas investigaciones en este ámbito han desarrollado unos gránulos de **Gelucire® con TFV** por medio de liofilización que se introducen en una matriz de HPMC y CH 1:2p/p para posteriormente comprimirse. Consiguen así comprimidos vaginales que combinan diferentes mecanismos de liberación de TFV obteniendo concentraciones de manera sostenida del mismo por más de 216 horas. Además, estos comprimidos han demostrado permanecer adheridas a la mucosa vaginal durante todo ese tiempo. [51]

Por último, dentro de los comprimidos vaginales; se han estudiado cápsulas blandas con gel que contienen *Lactobacillus* capaces de expresar moléculas con capacidad de inhibir al VIH. Las bacterias de este género son consideradas como probióticos y aunque su potencial como microbicida aún es discutido, cada vez tienen una mayor importancia. [52]

#### **4.- FILMS VAGINALES**

Las **películas vaginales** están constituidas por unas tiras finas de polímeros solubles en agua que se disuelven cuando se colocan en la mucosa vaginal, liberando el ingrediente activo de forma local. Se trata de formulaciones de pequeño grosor y tamaño, por lo que resultan bastante fáciles discretas y cómodas de usar y sin posibilidad de fugas durante su uso. Además, presenta una liberación rápida con un empaque mínimo [12]

Actualmente se han desarrollado *films* vaginales que incorporan fármacos **ITIAN**. Un ejemplo de esto es la película formulada a partir de diferentes combinaciones de **HPMC y alginato sódico** que contenía **Abacavir**. Estas tenían la ventaja de poder ver modificadas sus propiedades tales como ruptura y resistencia a la tracción según el porcentaje de HPMC y alginato sódico incluidas en las mismas. Los *films* resultantes eran finos, flexibles, transparentes y fáciles de manipular. Los resultados obtenidos de esta película a nivel *in vitro* denotan la efectividad de la misma frente VIH-1 y VIH-2, además de presentar mínima citotoxicidad tanto *in vitro* como *in vivo* y carecer de efecto irritante a nivel vaginal. [53]

En este frente, por otro lado; hay investigaciones sobre **ITINN** en *film* vaginales en las que de nuevo destaca la **DPV**.

En concreto, se desarrolló un *film* de **alcohol polivinílico (PVA), polietilenglicol, propilenglicol y glicerina** cargado con **1,25mg de DPV**. Fue diseñado para disolverse en cortos periodos de tiempo, obteniendo así liberaciones rápidas de DPV. Los datos obtenidos en ensayos de liberación *in vitro* corroboraban lo anterior, con una liberación de más del 50% de la sustancia activa en menos de 10 minutos. 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 su seguridad. [54]

Con el fin de conseguir una liberación más lenta del fármaco, Pereira-Cautela y col. trataron de aumentar el tiempo de erosión/disolución de los *films*. Así, desarrollaron una combinación de PVA polimérica con pectina para producir unos *films* vaginales con **TDF y Emtricitabina** con una cesión de fármaco más sostenida. De esta manera, se desarrollaron *films*; compuestos por dos capas de film sin fármaco entre las cuales se disponían NP de Eudragit® cargadas con los fármacos. Sin embargo, a pesar del gran avance que suponían estos films, los ensayos *in vitro* demostraron que la liberación de fármaco durante las primeras 8 horas era insuficiente para poder otorgar una protección eficaz frente al VIH. [55]

#### **5.- NANOMICROBICIDAS**

Otro tipo de formulaciones que están desarrollando actualmente como alternativa a las convencionales son las nanopartículas (NPs). Se tratan de estructuras constituidas por fibras poliméricas mucoadhesivas entrecruzadas que ceden de manera controlada los fármacos contenidos en su matriz. Se trata de sistemas de dosificación de acción prolongada que pueden aumentar el tiempo entre dosis y reducir las fluctuaciones de los niveles de fármaco, así como aumentar la cantidad del agente terapéutico en los reservorios virales. Poseen buenos perfiles de liberación *in vitro*, pero los tiempos de retención en la mucosa vaginal son deficientes si no se les acompaña con el vehículo adecuado. [12]

En un primer momento se desarrollaron unas NP de plata (AgNPs) que demostraban tener actividad antiviral innata; actuando como agente terapéutico en sí mismo.

Con el propósito de demostrar la capacidad de estas para inhibir la transmisión del VIH-1 a nivel vaginal se desarrolló **gel Replens® cargado de AgNPs recubiertas de PVP**. Este fue sometido a estudios *in vivo e in vitro* demostrando los resultados que esta formulación era capaz

de inhibir el VIH-1 hasta 48 horas posteriormente a su aplicación en tejido cervical ya que previene la interacción del gp120 del VIH-1 y el CD4 celular, inhibiendo así la fusión o entrada del virus en la célula huésped. Además, las concentraciones requeridas carecían de citotoxicidad para el organismo, así como actividad virucida de amplio espectro. [56]

Siguiendo la dinámica de desarrollo de todos los microbicidas; un grupo de estudio biomédico de Oporto probó cargar estas NP con fármacos ya utilizados en distintas formulaciones antirretrovirales como es el caso de la **DPV**. Así diseñaron unas NP cargadas con **policaprolactona (PCL)** y otras con **poli (D-L(ácido láctico-co-glicólico-PLGA))**. Los resultados mostraron que estos sistemas eran capaces de liberar el fármaco durante 24 horas a un pH de 4,2-7,4. Si bien, estas estructuras mostraron buenos perfiles farmacocinéticos *in vitro*, 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). [57]

Otro fármaco probado en NP fue el **TFV**. En este caso se formuló en **NP lipídicas sólidas de polilisina-heparina**. Estas NP se caracterizaban por su mejora en la internalización celular del fármaco y carecer de citotoxicidad en humanos. Esta internalización y mejora de la efectividad ARV sucede cuando se administran vía tópica ya que de esta manera aumenta el potencial de captación celular de microbicida y alejar el virus durante el proceso de infección [58]

Recientemente, Bictegravir (inhibidor de la cadena de integrasa -BIC-) ha sido aprobado por la FDA como tratamiento del VIH-1 y aunque aún necesita mayor investigación para evidenciar su potencial profiláctico frente a la enfermedad, ya hay grupos de investigación que han desarrollado NP de PGLA con BIC (BIC NP) con el fin de mejorar sus resultados frente a su formulación en solución. Sorprendentemente la encapsulación en NP de este provocó una disminución de la  $CI_{50}$  del VIH frente a la formulación de BIC en gel, así como una liberación sostenida del fármaco y mejora en la citotoxicidad. A pesar de los resultados alentadores aún se necesita mayor investigación en esta línea. [59]

Debido al auge actual de la nanotecnología en este ámbito, se ha desarrollado un nanocompuesto (G2-S16) para la prevención del VIH. G2-S16 es un dendrímero polianiónico de carbosilano de segunda generación, formado por un núcleo de silicio y grupos sulfonatos en su periferia con 16 grupos negativos. Este se une al gp120 y bloquea la adhesión viral a los receptores CD4 con una amplia actividad contra diferentes cepas del VIH. Ha demostrado ser seguro cuando se utiliza como un tópico microbicida vaginal, no sólo *in vitro*, sino también *in vivo*. En los ensayos realizados con el no causó ningún tipo de inflamación o irritación de la vagina y cérvix. Demuestra así que se trata de un buen compuesto para la prevención profiláctica del VIH, aunque aún necesita ser evaluado de manera más exhaustiva. [60]

Siguiendo la misma línea de este trabajo, se ha aprovechado la obtención de nuevos dendrímeros (G1-S4 y G2-S16) contra el VIH-1 y HSV-2 para el desarrollo de un microbicida tópico. Para ello se utilizó como base el gel de Platycodin<sup>®</sup> (PD) debido a su actividad espermicida para suspender en el mismo las NP de G1-S4 y G2-S16 buscando una doble acción microbicida para prevenir la transmisión de enfermedades de transmisión sexual y embarazos no deseados. Los resultados G1-S4 / PD y G2-S16 / PD presentaron una inhibición del VIH *in vitro* de más del 95% además de una inmovilización del espermatozoide de 30 segundos. [61]

Con el fin de aumentar la concentración de principio activo en el sitio de acción, se intentó modificar la superficie de las NP, agregando ligandos específicos a la superficie de estas NP

que las dirijan al sitio específico de acción del fármaco, lo que les permitía ser retenidas y liberar el fármaco cuando alcanzan el objetivo.

Así por ejemplo las **NP de PLGA** cargadas con el fármaco antirretroviral **Saquinavir** se conjugaron con el anticuerpo anti-CD4, de manera que se unían a linfocitos CD4<sup>+</sup>, liberando de forma directa el fármaco en su interior.

Otro ejemplo son las **NP de PLGA y Eudragit® cargados con TFV** que liberan el fármaco de manera dependiente al pH de manera que cuando el semen produce un ascenso del mismo se produce una mayor expulsión de principio activo.

Otra modificación dentro de esta línea sería las NP de **ácido hialurónico** con **TFV** que liberan el fármaco gracias la degradación por la hialuronidasa presente en el líquido seminal. [62]

Finalmente, el último punto a valorar con estas NP es la manera de ser aplicadas. Las formulaciones que permiten una aplicación más sencilla son los geles o películas. Algún ejemplo que ya se ha probado de los mismos son las **películas de PVA con ARN interferente** o NP con **TFV o Efavirenz en película de HPMC, PVA y glicerina** que han demostrado una liberación sostenida del fármaco durante 24 horas, así como su seguridad. [63]

## **6.- FIBRAS ELECTROHILADAS.**

Una nueva forma farmacéutica reciente consiste en fibras de polímero cargadas con el fármaco conocidas como **fibras electrohiladas**, que se producen mediante “electrospinning”, una técnica que aplica fuerzas electrostáticas para formar fibras poliméricas. El ácido poliglicólico (PGA), el ácido poliláctico (PLA), la policaprolactona (PCL) y el PLGA son los polímeros más comunes utilizados en su fabricación. [12]

Las fibras solo pueden controlar la liberación del fármaco a través de la erosión y degradación del polímero y difusión de fármaco incorporado en menos de 15 minutos en superficies lo suficientemente húmedas. También hay polímeros tardan más en degradarse en el medio vaginal por lo que podrían utilizarse para lograr una liberación sostenida de 7 días. Aunque suponen una buena alternativa para la prevención del VIH, cabe destacar que requiere de una inversión financiera importante para su desarrollo y formulación, así como que su actuación no es tan específica como la de las NP. [12]

Ejemplos de estos son los microbicidas vaginales **con fibras electrohiladas de TFV**. Esta formulación se basaba en nanofibras de PVA cargadas con fármacos antirretrovirales que liberan el 95% del fármaco en 5 minutos con un pH tanto vaginal (4,3) como seminal (7,4). [64] Como en el caso de las NP también se han desarrollado nanofibras sensibles a hialuronidasa.

Otras nanofibras han incorporado antirretrovirales con mecanismos de acción diferentes como MVC. En este sentido, hubo un estudio que combinó dispersiones **sólidas electrohiladas de MVC con PVP** en los que los ensayos *in vitro* obtuvieron el 95% de la dosis liberada en 14 minutos cuando era con PVP y en 18 min cuando era con poli (óxido de etileno). Además, si a estas se les añadía Tween 20 como humectante se aceleró la liberación en 6 minutos. [65]

Estas formulaciones representarían un gran paso adelante en el desarrollo de microbicidas vaginales, ya que podría mejorar su adherencia independientemente de su tasa de liberación. Además, se pueden modificar para ofrecer una protección inmediata contra el virus o pueden dar liberación sostenida del fármaco durante varios días, evitando así su uso de forma dependiente de las relaciones sexuales de la mujer.

## **7.- COMBINACIONES**

Debido al éxito de las combinaciones de fármacos antirretrovirales en las formulaciones PreP al VIH se desarrollaron microbidas que incluían fármacos con diferentes mecanismos de acción frente al virus a fin de aumentar la efectividad del tratamiento.

Un ejemplo de esto último es la combinación de **TFV** (ITIAN más eficaz en cuanto a microbidas) con **DPV** (un ITINN) en películas poliméricas y AVs de poliuretano intravaginales. En el primer caso se observó que la concentración de DPV aumentaba en el tejido respecto a su aplicación en solitario, pero en el caso de los AV ambos fármacos se liberaban de igual manera durante 30 días. [66]

Otra posibilidad que ensayaron fue **DPV** junto con un **MVC** en AVs vaginales. Se ensayaron AV con 25mg de DVP y 100mg de MVC denotando buena seguridad y tolerancia, sin embargo, la concentración de DPV que se obtenía en la combinación era menor de la que se obtenía cuando se aplicaba en solitario. [67]

Este último año se ha desarrollado un comprimido que contiene **BIC** junto con **Emtricitabina** y **TFV alafenamida**. Los ensayos realizados con el mismo dan un perfil farmacocinético favorable con escasas interacciones y efectos adversos. Además, permitía aumentar la adherencia al tratamiento debido a la contención de varios principios activos en el mismo comprimido. [68]

## 6.- CONCLUSIONES

Debido al aumento de la incidencia de contagio de VIH en mujeres en los últimos años, se han introducido en África subsahariana el desarrollo de sistemas profilácticos de bajo coste frente a la infección que puedan ser aplicadas y controladas por parte de la mujer lo cual supone un gran avance.

Los resultados obtenidos han sido muy variables, desde los primeros fallos con la aplicación de geles que contenían surfactantes hasta los buenos datos obtenidos con el AV de TFV. A día de hoy, la formulación que se encuentra en un estado más avanzado de investigación y por tanto de manera más cercana a su comercialización, es el AV de DPV junto con Levornogestrel que ejerce una doble acción como PreP y anticonceptivo.

Aprovechando el auge que están teniendo últimamente formulaciones de tipo más novedoso, actualmente la investigación se está centrando más en el desarrollo de NP con fármacos antirretrovirales que después podrían ser incluidas en diferentes formas farmacéuticas (*films*, geles, AV...). Sin embargo, ningún resultado obtenido hasta el momento es concluyente y están lejos de poder ser aplicados en la práctica clínica. De hecho, la mayoría de los candidatos a microbidas aún se encuentran en estudios clínicos, necesitando una mayor evaluación para que su uso en humanos sea seguro y eficaz

A pesar de ello, nos encontramos ante una herramienta bastante prometedora que nos presenta un futuro esperanzador para prevenir el contagio del virus de la inmunodeficiencia humana a nivel mundial.

## 7.- BIBLIOGRAFÍA

[1] WHO.VIH/SIDA. 2019 [Internet]. Disponible en:

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/es/> (Consultado en abril de 2019)

[2] *Hechos y cifras: el VIH y el SIDA*. ONU Mujeres. 2019 [Internet]. Disponible en:

<http://www.unwomen.org/es/what-we-do/hiv-and-aids/facts-and-figures> (Consultado en marzo 2019)

- [3] Santana Alfredo, Domínguez Casimira, Lemes Angelines, et al. Biología celular y molecular del virus de inmunodeficiencia humana (VIH). *Rev Diagn Biol.* 2003; 52(1):07-18.
- [4] *The HIV Life Cycle Understanding HIV/AIDS*. AIDSinfo. 2019 [Internet] Disponible en: <https://aidsinfo.nih.gov/understanding-hiv-aids/fact-sheets/19/73/the-hiv-life-cycle> (Consultado en abril 2019)
- [5] *Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH)*. Universidad nacional autónoma de México. 2016. [Internet] Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/virologia/sida-vih.html> (Consultado en enero de 2019).
- [6] Codina C, Martín, M. (n.d.). La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. Farmacia Hospitalaria. 2019 [Internet] Disponible en: [http://www.sld.cu/galerias/pdf/servicios/sida/tomo2\\_cap21.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/servicios/sida/tomo2_cap21.pdf) (Consultado en marzo 2019).
- [7]. *Medicamentos contra el VIH autorizados por la FDA*. InfoSIDA. 2019 [Internet]. Disponible en: <https://infosida.nih.gov/understandinghiv-aids/fact-sheets/21/58/medicamentos-contra-el-vih-autorizados-por-la-fda> (Consultado en abril 2019)
- [8] *90-90-90 Un ambicioso objetivo de tratamiento para contribuir al fin de la epidemia de SIDA*. UNAIDS. 2016. Disponible en: [http://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/90\\_90\\_90\\_es.pdf](http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/90_90_90_es.pdf) (Consultado en marzo de 2019).
- [9] GeSIDA – Grupo de Estudio de la SEIMC integrado por profesionales sanitarios cuyos objetivos son promover y difundir la investigación y docencia en el ámbito de la infección de VIH con el fin de conseguir una asistencia de calidad. 2019[Internet]. Disponible en: <http://gesida-seimc.org/> (Consultado en Marzo 2019).
- [10] 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.
- [11] *Grupo de Trabajo sobre tratamientos del VIH*. Gtt-vih.org. 2005. [Internet]. Disponible en: <http://gtt-vih.org/files/active/0/Microbicidas.pdf> (Consultado en Abril 2019)
- [12] 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.
- [13] Wilkinson D, Tholandi M, Ramjee G, et al. Nonoxynol-9 spermicide for prevention of vaginally acquired HIV and other sexually transmitted infections: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials including more than 5,000 women. *Lancet Infect Dis.* 2002;2(10):613–617.
- [14] Peterson L, Nanda K, Opoku BK, et al. SAVVY (C31G) gel for prevention of HIV infection in women: a Phase 3, double-blind, randomized, placebo-controlled trial in Ghana. *PLoS One* 2007;2(12):e1312
- [15] Altini L, Blanchard K, Coetzee N, et al. Expanded safety and acceptability of the candidate vaginal microbicide Carraguard® in South Africa. *Contraception* 2010;82(6):563–571.
- [16] 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.
- [17] 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.
- [18] 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.

- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] Sokal DC, Karim QA, Sibeko S, et al. Safety of tenofovir gel, a vaginal microbicide, in South African women: results of the CAPRISA 004 trial. *Antivir Ther*. 2013;18(3):301–310.
- [22] Hendrix CW, Chen BA, Guddera V, et al. MTN-001: randomized pharmacokinetic cross-over study comparing tenofovir vaginal gel and oral tablets in vaginal tissue and other compartments. *PLoS One* 2013;8(1):e55013.
- [23] Martín-Illiana A, Cazorla-Luca R, Notario Pérez F, et al. Freeze-dried bioadhesive vaginal bigels for controlled release of Tenofovir. *Eur J Pharm Sci*. 2019;15(127):38–51.
- [24] Nel AM, Smythe SC, Habibi S, et al. Pharmacokinetics of 2 dapivirine vaginal microbicide gels and their safety vs. Hydroxyethyl cellulose-based universal placebo gel. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2010;55(2):161–169.
- [25] Turville SG, Aravantinou M, Miller T, et al. Efficacy of Carraguard-based microbicides in vivo despite variable in vitro activity. *PLoS One* 2008;3(9):e3162.
- [26] Barnable P, Calenda G, Ouattara L, et al. A MIV-150/zinc acetate gel inhibits SHIV-RT infection in macaque vaginal explants. *PLoS One* 2014;9(9):e108109.
- [27] Jean-Pierre N, Barnable P, Kizima L, et al. Multipurpose prevention approaches with antiretroviral-based formulations. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;60(2):1141–1144.
- [28] McBride J, Dias N, Cameron D et al. Pharmacokinetics of the Protein Microbicide 5P12-RANTES in Sheep following Single-Dose Vaginal Gel Administration *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(10):pii:e00965-17.
- [29] Montgomery ET, van der Straten A, Cheng H, et al. Vaginal ring adherence in sub-Saharan Africa: expulsion, removal, and perfect use. *AIDS Behav*. 2012;16(7):1787–1798.
- [30] 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.
- [31] 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.
- [32] Mesquita PM, Rastogi R, Segarra TJ, et al. Intravaginal ring delivery of tenofovir disoproxil fumarate for prevention of HIV and herpes simplex virus infection *Antimicrob Chemother*. 2012 Jul;67(7):1730-1738.
- [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*. 2014;43(5):364-369.
- [34] Baum MM, Butkyavichene I, Gilman J, et al. An intravaginal ring for the simultaneous delivery of multiple drugs. *J Pharm Sci*. 2012;101(8):2833–2843.
- [35] Clark JT, Clark MR, Shelke NB, et al. Engineering a segmented dual-reservoir polyurethane intravaginal ring for simultaneous prevention of HIV transmission and unwanted pregnancy. *PLoS One* 2014;9(3):e88509.
- [36] Nel A, Haazen W, Nuttall J, Romano J, Rosenberg Z, van Niekerk N. A safety and pharmacokinetic trial assessing delivery of dapivirine from a vaginal ring in healthy women. *AIDS* 2014;28(10):1479–1487.
- [37] Palanee-Phillips T, Schwartz K, Brown ER, et al. Characteristics of women enrolled into a randomized clinical trial of dapivirine vaginal ring for HIV-1 prevention. *PLoS One* 2015;10(6):e0128857.

- [38] Boyd P, Fetherston SM, McCoy CF, et al. Matrix and reservoir-type multipurpose vaginal rings for controlled release of dapivirine and levonorgestrel. *Int J Pharm.* 2016;511(1):619–629.
- [39] 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.
- [40] Villegas G, Calenda G, Ugaonkar S, et al. A novel microbicide/contraceptive intravaginal ring protects macaque genital mucosa against SHIV-RT infection ex vivo. *PLoS One* 2016;11(7):e0159332.
- [41] McBride JW, Boyd P, Dias N et al. Vaginal rings with exposed cores for sustained delivery of the HIV CCR5 inhibitor 5P12-RANTES *J Control Release.* 2019; 298: 1–11.
- [42] McBride JW, Malcolm RK, Dias N, et al. Development and pharmacokinetics of a combination vaginal ring for sustained release of dapivirine and the protein microbicide 5P12-RANTES. *Int J Pharm.* 2019;564:207-213.
- [43] Joshi SN, Katti U, Godbole S, et al. Phase I safety study of Praneem polyherbal vaginal tablet use among HIV-uninfected women in Pune, India. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2005;99(10):769–774.
- [44] 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.
- [45] Cazorla-Luna R, Notario-Pérez F, Martín-Illana A, et al. Chitosan-Based Mucoadhesive Vaginal Tablets for Controlled Release of the Anti-HIV Drug Tenofovir. *Pharmaceutics.* 2019;11(1): pii: E20
- [46] Cazorla-Luna R, Martín-Illana A, Notario-Pérez F, et al. Dapivirine Bioadhesive Vaginal Tablets Based on Natural Polymers for the Prevention of Sexual Transmission of HIV. *Polymers (Basel).* 2019 Mar 13;11(3): pii: E483.
- [47] Woolfson AD, Umrethia ML, Kett VL, et al. Freeze-dried, mucoadhesive system for vaginal delivery of the HIV microbicide, dapivirine: optimisation by an artificial neural network. *Int J Pharm.* 2010;388(1-2):136–143.
- [48] Rastogi R, Teller RS, Mesquita PM, et al. Osmotic pump tablets for delivery of antiretrovirals to the vaginal mucosa. *Antiviral Res.* 2013;100(1):255–258.
- [49] 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.
- [50] 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.
- [51] Notario-Pérez F, Cazorla-Luna R, Martín-Illana A, et al. Tenofovir Hot-Melt Granulation using Gelucire® to Develop Sustained-Release Vaginal Systems for Weekly Protection against Sexual Transmission of HIV. *Pharmaceutics.* 2019; 11(3): 137.
- [52] Lagenaur LA, Sanders-Beer BE, Brichacek B, et al. Prevention of vaginal SHIV transmission in macaques by a live recombinant *Lactobacillus*. *Mucosal Immunol.* 2011;4(6):648–657.
- [53] Ghosal K, Hazra BT, Bhowmik BB, et al. Formulation development, physicochemical characterization and in vitro-in vivo drug release of vaginal films. *Curr HIV Res.* 2016;14(4):295–306.
- [54] 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.

- [55] 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; 138:3-10.
- [56] Lara HH, Ixtepan-Turrent L, Garza-Treviño EN, et al. PVP-coated silver nanoparticles block the transmission of cell-free and cell-associated HIV-1 in human cervical culture. *J Nanobiotechnology.* 2010;8:15
- [57] das Neves J, Sarmento B. Precise engineering of dapivirine-loaded nanoparticles for the development of anti-HIV vaginal microbicides. *Acta Biomater.* 2015;18:77–87.
- [58] Alukda D, Sturgis T, Youan BB. Formulation of tenofovir-loaded functionalized solid lipid nanoparticles intended for HIV prevention. *J Pharm Sci.* 2011;100(8):3345–3356.
- [59] Mandal S, Prathipati PK, Belshan M, et al. A potential long-acting bicitegravir loaded nano-drug delivery system for HIV-1 infection: A proof-of-concept study. *Res. Antiviral* 2019; 167: 83-88.
- [60] Ceña-Diez R, García-Broncano P, Javier de la Mata F, et al. G2-S16 dendrimer as a candidate for a microbicide to prevent HIV-1 infection in women. *Nanoscale.* 2017;9(27):9732–9742.
- [61] Rafael Ceña-Diez, Alba Martín-Moreno, F Javier de la Mata, et al. G1-S4 or G2-S16 carbosilane dendrimer in combination with Platygodin D as a promising vaginal microbicide candidate with contraceptive activity *Int J Nanomedicine.* 2019;14:2371–2381.
- [62] Agrahari V, Zhang C, Zhang T, et al. Hyaluronidase-sensitive nanoparticle templates for triggered release of HIV/AIDS microbicide in vitro. *AAPS J.* 2014;16(2):181–193.
- [63] Machado A, Cunha-Reis C, Araújo F, et al. Development and in vivo safety assessment of tenofovir-loaded nanoparticles-in-film as a novel vaginal microbicide delivery system. *Acta Biomater.* 2016;44:332–340.
- [64] Blakney AK, Krogstad EA, Jiang YH, et al. Delivery of multipurpose prevention drug combinations from electrospun nanofibers using composite microarchitectures. *Int J Nanomedicine* 2014;9:2967–2978.
- [65] Ball C, Woodrow KA. Electrospun solid dispersions of Maraviroc for rapid intravaginal preexposure prophylaxis of HIV. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(8):4855–4865.
- [66] Akil A, Devlin B, Cost M, et al. Increased Dapivirine tissue accumulation through vaginal film codelivery of dapivirine and tenofovir. *Mol Pharm.* 2014;11(5):1533–1541.
- [67] Fetherston SM, Boyd P, McCoy CF, et al. A silicone elastomer vaginal ring for HIV prevention containing two microbicides with different mechanisms of action. *Eur J Pharm Sci.* 2013;48(3):406–415.
- [68] Pham HT, Mesplède T. Bicitegravir in a fixed-dose tablet with emtricitabine and tenofovir alafenamide for the treatment of HIV infection: pharmacology and clinical implications. *Expert Opin Pharmacother.* 2019;20(4):385–397.