



**FACULTAD DE FARMACIA**  
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**TÍTULO: Innovación tecnológica de interés  
terapéutico en oncología**

Autor: Natalia Esteban Pérez

Fecha: Febrero 2020

Tutor: Dra. María Esther Gil Alegre

# Índice

1	Resumen .....	3
2	Introducción .....	3
3	Objetivo.....	4
4	Materiales y métodos .....	5
5	Resultados y discusión .....	5
5.1	Cáncer.....	5
5.2	Nanotecnología.....	7
5.3	Características doxorubicina.....	8
5.4	Formulaciones doxorubicina .....	10
5.4.1	Hidrocloruro de doxorubicina (Adriamicina®) .....	10
5.4.2	Doxorubicina liposomal pegilada (Doxil®/Caelyx®) .....	11
5.4.3	Doxorubicina liposomal (Myocet®) .....	14
5.4.4	Comparación Adriamicina® - Doxil/Caelyx® – Myocet® .....	15
5.5	Perspectivas futuras .....	16
6	Conclusiones .....	18
7	Bibliografía.....	18

## **1 Resumen**

El cáncer es un conjunto de patologías con etiología multifactorial que actualmente se encuentra entre una de las principales causas de morbi-mortalidad mundial. Actualmente, este grupo de enfermedades se postula como uno de los que más afecta a la población y, además, su incidencia va en aumento tanto a nivel mundial como en España. El tratamiento antitumoral, suele ser muy agresivo conllevando gran cantidad de efectos adversos, por ello es importante, que, gracias a la innovación tecnológica, se intenten mermar los mismos sin disminuir la actividad farmacológica de la molécula. Un ejemplo de mejora de las formulaciones de un principio activo la podemos encontrar en la doxorubicina.

La doxorubicina es un potente antitumoral de amplio espectro perteneciente al grupo de las antraciclinas que se obtiene a partir de *Streptomyces petecius*. Es usado tanto para tratar tumores sólidos siendo más usado en tumores de mama, ovario, vejiga, hígado, pulmón y sarcoma, así como también para algún tipo de tumor no sólido entre el que destaca el linfoma de Hodgkin. La primera vez que se aisló, se observó que presentaba una potente acción antitumoral, sin embargo, también eran bastantes los efectos adversos dosis – limitante que presentaba, siendo los más importantes la cardiotoxicidad y mielosupresión. Por ello, su uso en la terapéutica no era muy indicado y no se usaba para tratamientos muy prolongados.

Con todo ello, se llevaron a cabo mejoras tecnológicas sobre este principio activo. Principalmente estas mejoras inciden en la elaboración de sistemas basados en la nanotecnología, como liposomas, de forma que se consigue una mejor llegada del fármaco al tejido tumoral debido a su tamaño y por lo tanto minimiza los efectos adversos que puede tener esta molécula en tejidos sanos. Otra de las innovaciones tecnológicas implementadas sobre esta molécula es la pegilación de los liposomas, un hecho que aumenta la vida media de los mismos en sangre ya que es una forma de evitar la eliminación por el sistema mononuclear fagocítico.

Actualmente, hay dos formulaciones liposomales de doxorubicina en el mercado: Doxyl®/Caelyx® y Myocet® presentando ambas mejoras sobre la doxorubicina libre. Las dos formulaciones liposomales presentan una vida media bastante superior a la que presentaba la doxorubicina libre.

## **2 Introducción**

El cáncer es un conjunto de patologías con etiología multifactorial que se ha posicionado como una de las principales causas de morbi-mortalidad a nivel global. En 2018, la incidencia de tumores en el mundo se situó alrededor de 18 millones estimándose, según el proyecto GLOBOCAN, que en 2040 su incidencia alcance los 30 millones de casos, suponiendo un aumento del 63% (1). En cuanto a la situación en España, es muy similar siendo la primera causa de muerte en hombres y la segunda en mujeres, solo por detrás de las enfermedades cardiovasculares. Este aumento de la incidencia postula la necesidad de un arsenal terapéutico amplio, adecuado, efectivo y seguro para paliar esta enfermedad.

La doxorubicina ha sido, a lo largo de los años, uno de los pilares fundamentales en el tratamiento de tumores siendo uno de los antitumorales más potentes de los que se

dispone. Es usado principalmente para tumores sólidos como los de vejiga, mama, estómago, pulmón, ovario, tiroides, sarcoma, melanoma múltiple y así como otros tipos de tumores entre los que se encuentra el linfoma de Hodgkin (Ilustración 1). Hay que tener en cuenta que entre sus indicaciones se encuentran dos de los cánceres de mayor incidencia en España, el cáncer de mama y el cáncer de vejiga. A pesar de su alta eficacia, sus efectos adversos suponen un limitación en su empleo ya que pueden resultar letales siendo alguno de ellos la cardiotoxicidad y la mielosupresión, ambos dosis-limitante.

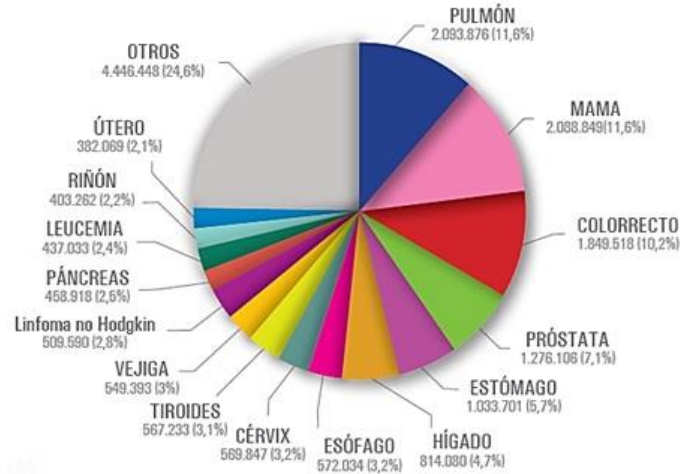


Ilustración 1. Tipos de cáncer diagnosticados en 2018 a nivel mundial (1)

Por todo ello, desde el descubrimiento de esta molécula hasta la actualidad, se han implementado mejoras basadas en la innovación incremental, la cual consiste en aportar un valor añadido a un producto ya existente, como en este caso la doxorubicina. De esta forma han ido surgiendo diferentes formulaciones que tratan de incrementar la eficacia y seguridad de la molécula sin comprometer la acción farmacológica.

Principalmente, se han desarrollado sistemas basados en nanosistemas que consiguen dotar a este principio activo de propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas únicas, así como alcanzar una mayor selectividad por el tejido tumoral gracias a la mejora de la semivida y de la alta permeabilidad de los vasos tumorales.

### 3 Objetivo

El presente trabajo tiene como objetivo principal el estudio de las mejoras implementadas en el campo de la innovación incremental para la mejora de la doxorubicina, un potente antitumoral. Se estudiarán diversas formulaciones comercializadas de doxorubicina desde su descubrimiento hasta la actualidad de forma que se evidencien las mejoras que dichas modificaciones han conseguido en el tratamiento de las patologías para las que está indicado dicho principio activo, así como comparando las diversas formulaciones entre sí para poder conocer las ventajas y desventajas que cada medicamento aporta a la terapéutica.

## 4 Materiales y métodos

Para la elaboración del presente trabajo de fin de grado se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica sistemática a través de diversas bases de datos como PubMed y Google Scholar entre otros. Se han usado para la búsqueda las siguientes palabras clave: “doxorubicin”, “liposomes”, “pegylated”, “cardiotoxicity” y “formulations”.

También se ha recurrido al Centro de Información online de medicamentos de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS- CIMA) para recopilar datos de aquellas formulaciones autorizadas.

## 5 Resultados y discusión

### 5.1 Cáncer

El cáncer es un conjunto de patologías de origen multifactorial que radica en la alteración morfológica y funcional de las células de un tejido provocando la proliferación de las mismas siendo capaces de invadir, desplazar y destruir tejidos sanos (Ilustración 2).

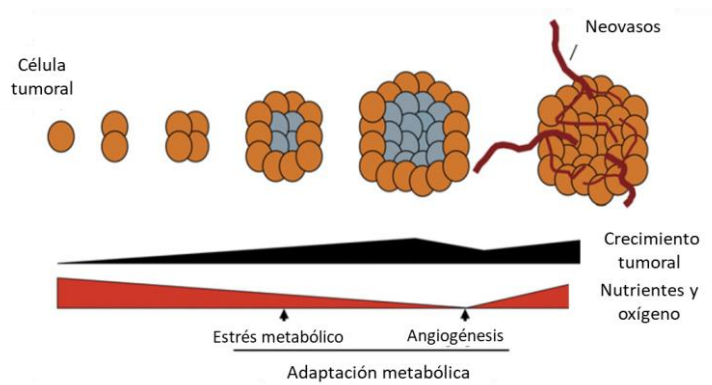


Ilustración 2. Crecimiento tumoral. Modificado de (2)

El desarrollo tumoral se puede deber a la aparición de diversas mutaciones así como por alteraciones epigenéticas malignas. En este proceso intervienen tanto factores endógenos: genéticos y epigenéticos; así como factores exógenos entre los que se engloban la exposición a compuestos químicos (tabaco, nitrosaminas, aflatoxinas...), físicos (radiaciones ionizantes) o biológicos (virus). Una de las alteraciones más frecuentes en el desarrollo de tumores se basa en mecanismos epigenéticos, en este caso la hipermetilación del ADN (3). Este mecanismo consiste en la metilación de citosinas en zonas cercanas al promotor de manera que la maquinaria encargada de la transcripción no puede llevarla a cabo (4). En células tumorales esto supone el silenciamiento de genes supresores de tumores, favoreciendo el estado patológico.

La diferenciación celular de las células tumorales se conoce como “hitos del cáncer” entre los que destacan:

- independencia a las señales externas de proliferación
- falta de respuesta a señales antiproliferativas
- evasión de apoptosis
- inmortalidad
- angiogénesis sostenida

- invasión tisular y metástasis

Las terapias usadas para tratar el cáncer, suelen ser bastante tóxicas, ya que además de a las células tumorales, los fármacos pueden llegar a células normales en crecimiento, dañándolas. Esto se debe a que los antitumorales pueden alterar los procesos de replicación, transcripción y traducción no solo de células tumorales, si no también de células normales, bien por interacción con el ADN o con otras dianas, o por la generación de radicales libres que pueden generar estrés oxidativo en todo tipo de tejidos, no solo en los de crecimiento descontrolado.

Además, en muchos casos, el fracaso terapéutico se asocia a que es común que en los tumores sólidos, las células acaben desarrollando resistencia a los fármacos por diversos mecanismos moleculares. Estos mecanismos se explican por alteraciones genéticas que modifican la diana del fármaco, inducción de apoptosis o desarrollo de transportadores capaces de expulsar el principio activo al exterior de la célula. Por otro lado, hay que tener en cuenta que la localización del tumor puede actuar como barrera para impedir la llegada del fármaco.

De manera general, el principio activo consigue llegar al sitio de acción por los vasos sanguíneos. Sin embargo, son muchas las diferencias entre los capilares que irrigan tejidos normales frente a los que irrigan tejidos tumorales. Las células tumorales, para crecer, favorecen la formación de nuevos vasos asegurando un adecuado aporte de nutrientes y oxígeno (5). La vasculatura tumoral es heterogénea tanto en su organización, como en su estructura y función (Ilustración 3). Además, tiene unas características especiales como la tortuosidad de los vasos, la ausencia de membrana basal así como una permeabilidad aumentada (6). El desarrollo de nuevos vasos, también conocido como angiogénesis, se producen espacios endoteliales con un tamaño comprendido entre 100nm y 2µm dependiendo del tamaño del tumor. A parte de esto, la vasculatura tumoral también se caracteriza por un pobre sistema linfático que favorece la acumulación de sustancias en el tejido tumoral (7). Este fenómeno se conoce como fenómeno de permeabilidad y retención aumentada.

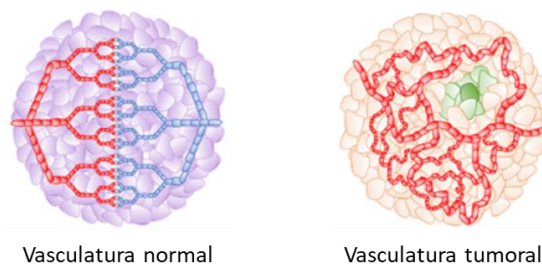


Ilustración 3. Diferencias entre vasculatura normal y tumoral modificado de (6)

De esta forma, se observó que los nanosistemas eran capaces de extravasarse para llegar al tumor gracias a la permeabilidad aumentada de los vasos tumorales y además, quedar retenido en dicho tejido debido al bajo drenaje linfático que tiene lugar en esta zona. A este fenómeno se le conoce como fenómeno de permeabilidad y retención aumentada y marca el comienzo de la vectorización pasiva de fármacos a tumores sólidos (8).

## 5.2 Nanotecnología

Hoy en día, en el tratamiento del cáncer, hay dos principales objetivos para mejorar la eficacia por dosis de los antitumorales: vectorización selectiva así como evitar las barreras naturales que existen hasta llegar al tumor. La nanotecnología, una campo de investigación multidisciplinar, se postula como una buena opción para conseguir estos objetivos. En sentido estricto, nanotecnología se define como cualquier sistema cuyo tamaño esté comprendido entre 1-1000 nm. Actualmente, para el tratamiento hay diversos tipos de nanosistemas entre los que podemos encontrar liposomas, nanosistemas de contraste vectorizados así como nanopartículas (9).

Los liposomas son sistemas formados por una bicapa lipídica concéntrica en la cual queda retenido un núcleo acuoso. De esta forma, los principios activos hidrófobos se pueden incorporar a la bicapa lipídica, de la misma forma que los hidrófilos lo pueden hacer en el núcleo (10). Para introducir el principio activo hay diversos métodos, sin embargo, en el caso de la doxorubicina al tener grupos ionizables, se suelen emplear técnicas de carga activa como el uso de gradientes de pH de forma que la molécula es atrapada tras la formación del liposoma. Este método consigue una eficacia de encapsulación cercana al 100%.

Gracias al tamaño de estos sistemas, se pueden extravasar por la gran separación que quedan en el tejido endotelial de los vasos tumorales, ya que es de más de 100 nm frente a la estrecha separación que tiene lugar en las células normales de entre 5 y 10 nm (Ilustración 4). Otra ventaja basada en el tamaño de estos sistemas es el aumento del tiempo que se encuentran en circulación, aunque en dicho fenómeno también influye la composición liposomal. En este sentido, una de las principales desventajas que presentan estos sistemas es que los liposomas pueden ser reconocidos rápidamente por el sistema retículo-endotelial y ser retirados así de circulación sanguínea. Por otro lado, existe la posibilidad de que el principio activo se libere del liposoma antes de llegar al lugar de acción.

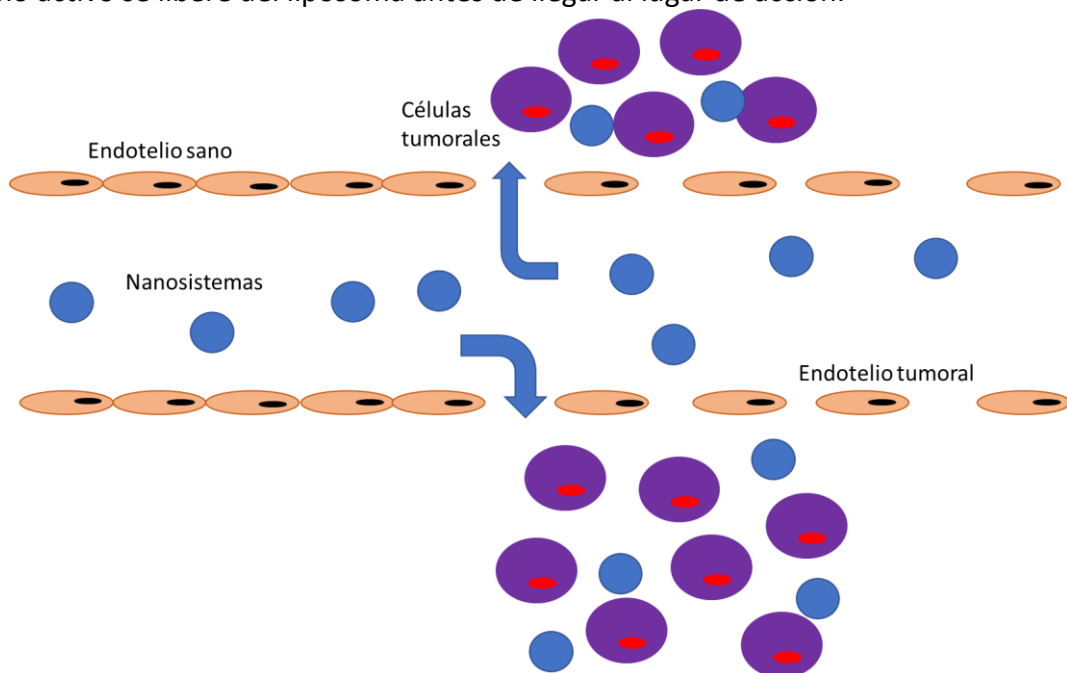


Ilustración 4. Extravasación de nanosistemas en endotelio tumoral

En resumen, hay tres variables importantes que controlar en estos sistemas liposomales ya que de ellos depende la actividad farmacológica así como el perfil toxicológico, y son: la composición de la bicapa lipídica, las propiedades del principio activo y la naturaleza de la interacción entre el principio activo y el liposoma.

### 5.3 Características doxorubicina

Alrededor de la década de los 50 se comenzó a estudiar la posibilidad de obtener compuestos antitumorales provenientes de microorganismos. De esta forma, a partir de *Streptomyces peucetius* se aisló un compuesto, daunorubicina, el cual tenía capacidad antitumoral en ratones. Sin embargo, este presentaba una toxicidad muy alta la cual conducía a la muerte (11).

A partir, de dicha molécula, se decidió implementar modificaciones genéticas sobre *Streptomyces spp.* para producir un compuesto mejorado. Este compuesto fue llamado doxorubicina y, aunque presentaba una mejor acción antitumoral, seguía manteniendo una gran cardiotoxicidad. Sin embargo, aunque seguía produciendo efectos adversos destacables, manteniendo la toxicidad, se comenzó a usar en terapéutica debido al amplio espectro de actuación en diferentes tumores y la gran efectividad de la molécula.

Actualmente, la obtención de doxorubicina se realiza mediante diferentes técnicas de ingeniería genética sobre *S. peucetius* con el fin de obtener cantidades significativas para la elaboración industrial de formulaciones de este fármaco (12). La doxorubicina es una molécula perteneciente al grupo de antibióticos de las antraciclinas (Ilustración 5). Es un compuesto anfílico formado por una tetraciclina fluorescente unida mediante un enlace glucosídico a un aminoazúcar cargado positivamente. La forma soluble de doxorubicina es el clorhidrato de doxorubicina que es higroscópico y cristalino. Esta molécula, entra en la célula mediante transporte flip-flop seguido de una traslocación por los poros del núcleo donde produce la interacción de muchos procesos celulares.

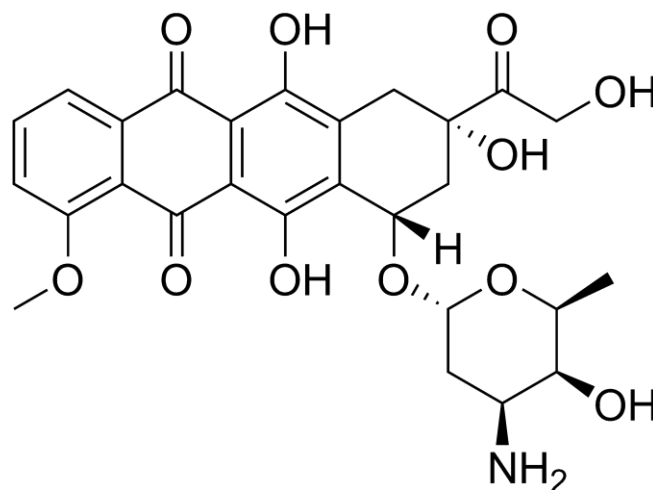


Ilustración 5. Estructura molecular de la doxorubicina



El mecanismo de acción antitumoral de esta molécula es triple. Por un lado, actúa intercalándose entre los pares de bases de las cadenas de ADN, de forma que se consigue la inhibición de la síntesis de ADN y ARN por lo que se bloquean los procesos de replicación y transcripción. Cabe destacar que no solo es capaz de intercalarse con el ADN nuclear, si no que también lo hace sobre el ADN mitocondrial (13). Por otra parte, es capaz de generar radicales libres que provocan daño oxidativo en las membranas celulares, las proteínas y el ADN. Esto se produce por la estructura de quinona de la doxorubicina que participa en reacciones redox metabólicas actuando como aceptor de electrones, dando lugar a un radical de semiquinona inestable que puede provocar daño en la cadena de ADN, o puede estabilizarse volviendo a la forma de quinona produciendo especies reactivas de oxígeno (ERO). Además, esta molécula es capaz de inhibir la topoisomerasa II, inhibiendo la replicación y transcripción del DNA así como la reparación, ya que la relajación de la cadena superenrollada de DNA no se puede llevar a cabo debido a la inhibición de la enzima.

En cuanto a la farmacocinética desde este principio activo, se caracteriza por una vida media muy corta en circulación sanguínea, con una gran distribución no selectiva por tejidos, esto se traduce en la necesidad de dosis relativamente altas para conseguir que se alcance un porcentaje de dosis efectivo en el tejido tumoral, lo que puede agravar los efectos adversos junto a su inespecificidad.

El principal problema que presenta esta molécula es la cardiotoxicidad asociada que se presenta en alrededor del 11% de los pacientes que se someten a tratamiento con este fármaco. Además, es importante tener en cuenta que el mecanismo de toxicidad cardíaca no difiere del mecanismo de acción de la molécula. En este caso, se produce por un conjunto de causas entre las que se encuentran el estrés oxidativo generado, la desregulación específica de genes cardíacos así como por la inducción de apoptosis en miocitos. También, cabe destacar que la cardiotoxicidad se puede expresar de manera crónica o aguda. En el caso de la aguda, los síntomas son reversibles y se encuentran algunos como arritmias o disfunción ventricular izquierda. Sin embargo, la cardiotoxicidad crónica puede ser letal, ya que la doxorubicina causa cardiomiopatías irreversibles en los meses posteriores a la finalización del tratamiento, pero también se han registrado algunos casos en los que ha ocurrido incluso veinte años después. Los factores de riesgo que pueden desencadenar el desarrollo de estas anomalías cardíacas son: la dosis de principio activo, la combinación de esta molécula con otros medicamentos con riesgo de cardiotoxicidad y anomalías cardíacas preexistentes (14).

Por todo ello, aunque la doxorubicina es un excelente antitumoral y es de amplio espectro, no se puede usar ni en todos los pacientes ni durante un largo periodo de tiempo. Para evitar la aparición de estas anomalías cardíacas en clínica se suele monitorizar la función cardíaca de los pacientes así como conocer si tienen alguno de los factores de riesgo anteriormente citados para evitar el uso de esta molécula en estos pacientes. Sin embargo, gracias a la innovación incremental, se está trabajando en la obtención de nuevas formulaciones de doxorubicina que consigan minimizar el aspecto tóxico sin mermar la capacidad antitumoral que presenta la misma.

## **5.4 Formulaciones doxorubicina**

### **5.4.1 Hidrocloruro de doxorubicina (Adriamicina®)**

La primera formulación comercializada de doxorubicina fue Adriamicina® que fue aprobada por la FDA en 1974. Esta consistía en doxorubicina hidrocloruro o polvos liofilizados. Inicialmente, esta solución se administraba en bolo, sin embargo, se observó que una forma de mejorar el perfil toxicológico de la misma era realizar una administración mediante perfusión. Actualmente, esta perfusión se lleva a cabo entre 15 y 20 minutos, siguiendo ciclos de 21 días.

En cuanto a la farmacocinética de dicha formulación, presenta una vida media de distribución de cinco minutos aproximadamente y una vida media de eliminación de entre 24 y 48 horas, además presenta unión a proteínas plasmáticas entre un 50 y un 85%. Las principales vías de excreción son metabolismo hepático y biliar. El metabolismo de esta molécula da lugar a diferentes metabolitos entre los que destaca el que se debe a su reducción, que contribuye a la producción de radicales libres que colaboran con la acción antitumoral del fármaco.

Las reacciones adversas más comunes tras la administración de este fármaco son fatiga, alopecia, náuseas y vómitos. En caso de que exista extravasación del fármaco antes de llegar al lugar de acción, se produce necrosis, motivo por el cual solo puede ser administrada por vía parenteral. Además, esta molécula no es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica por lo que, aunque tiene un espectro de acción amplio, no puede ser usada para tumores del sistema nervioso central y tumores cerebrales. La doxorubicina llega a los tejidos por un proceso rápido de difusión así como por transporte facilitado, siendo ambos dependientes de pH y de temperatura.

Uno de los principales problemas de esta formulación es que no minimiza la cardiotoxicidad asociada a la molécula, y por ello, no es posible su uso a largo plazo. Al ser un antitumoral tan potente, en algunos casos se administraba un fármaco cardioprotector como el dexrazoxano, un agente quelante. Sin embargo, esto puede producir un incremento de la mielosupresión así como provocar la aparición de otras reacciones adversas.

Por todo ello, se decidió hacer tareas de innovación incremental sobre esta molécula con el fin de aportarle un valor añadido y conseguir un mejor balance beneficio-riesgo.

Con el comienzo del desarrollo de la nanotecnología, comenzó el desarrollo de liposomas. Estos sistemas podrían mejorar potencialmente la eficacia de los principios activos, así como disminuir los efectos adversos, ya que tendrían más especificidad hacia el tejido tumoral. Sin embargo, con el comienzo de estos estudios se observó que uno de los principales problemas que presentaban estos sistemas era el rápido reconocimiento y con ello la retirada de circulación sanguínea por el sistema retículo endotelial. Otro problema que presentaban era la dificultad de conseguir la extravasación de estos sistemas en el tejido diana así como conseguir que el fármaco se liberara del liposoma en el tejido diana y no en circulación sanguínea.

A parte de estos problemas, surgieron otros relacionados con la tecnología del sistema para conseguir una eficacia de encapsulación que asegurara unas dosis eficaces para el paciente. De esta forma, se observaron tres aspectos especialmente importantes para la producción de estos sistemas: la composición de la bicapa lipídica y el núcleo acuoso, las características físicoquímicas del principio activo y, por último, la interacción entre el principio activo y los compartimentos liposomales. Además, había que conseguir evitar, mediante modificaciones tecnológicas, tres rutas de aclaramiento que hacían disminuir la biodisponibilidad de los liposomas en circulación sanguínea. Estas tres rutas son: el aclaramiento debido al sistema retículo endotelial de los hepatocitos, la extravasación de liposomas de circulación sanguínea a lugares diferentes al tejido diana y la acumulación de estos sistemas en lugares con permeabilidad vascular aumentada.

#### **5.4.2 Doxorubicina liposomal pegilada (Doxil®/Caelyx®)**

En 1987, se intentó desarrollar una formulación liposomal de doxorubicina que no superó los ensayos clínicos. Este rechazo se debió, principalmente, a la farmacocinética que presentaba esta formulación, ya que el principio activo se liberaba muy rápidamente de los liposomas produciendo una cardiotoxicidad acrecentada y además, los liposomas eran aclarados muy rápidamente por el retículo endotelial de hígado y bazo.

Sin embargo, no fue hasta 1996 cuando se produjo la comercialización de Doxil® en Estados Unidos, llamado Caelyx® en la Unión Europea. Este medicamento fue el primero que se comercializó para el tratamiento de cáncer basado en nanomedicina. Actualmente, está indicado para cáncer de mama metastásico en monoterapia, para cáncer de ovario recurrente cuando ha fallado la terapia de primera línea (cisplatino), en combinación con otros fármacos para sarcoma de Kaposi, y mieloma múltiple (15). Respecto a la administración de este medicamento se lleva a cabo mediante administración intravenosa, sin embargo, la posología depende del tipo de tumor que se vaya a tratar. En caso de cáncer de mama u ovario se administra en ciclos de 4 semanas, mientras que en mieloma múltiple se administra en perfusión durante 1 hora tras la administración de bortezomib cada 3 semanas.

Esta formulación consiste en doxorubicina liposomal pegilada. Está compuesta por una suspensión liposomal de doxorubicina hidrocloreto de tamaño de entre 80 y 90 nm (Ilustración 6). El tamaño de estos nanosistemas los hacen óptimos para conseguir una terapia dirigida frente a tumores sólidos ya que, los liposomas se podrán extravasar gracias a las alteraciones en las uniones de los capilares que irrigan el tejido tumoral. Por otro lado, la pegilación aporta a los liposomas una capa muy hidrofílica, protectora y flexible de forma que inhiben la detección por parte del sistema mononuclear fagocítico y por lo tanto, aumenta el tiempo en circulación sanguínea (16).

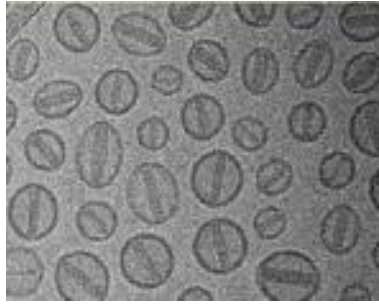


Ilustración 6. Imagen de los liposomas por criomicroscopía electrónica (16)

La bicapa lipídica, con un tamaño comprendido entre 80 y 90 nm, está compuesta por fosfatidilcolina hidrogenada de soja, colesterol y disestearoil-fosfatidiletanolamina unido a polietilenglicol (PEG) en un ratio molar de 56:38:5 (Ilustración 7). La fosfatidilcolina, el colesterol y la fosfatidiletanolamina son componentes lipídicos habituales de la membrana celular, lo que justifica la biocompatibilidad de los liposomas. Con respecto a la pegilación, las moléculas de PEG no se encuentran distribuidas en la bicapa lipídica de manera simétrica, si no que se pueden encontrar diferencias entre la ambas membranas. En la interior, las cadenas de PEG se encuentran en conformación de champiñón, mientras que en la exterior se observa una conformación mucho más extendida.

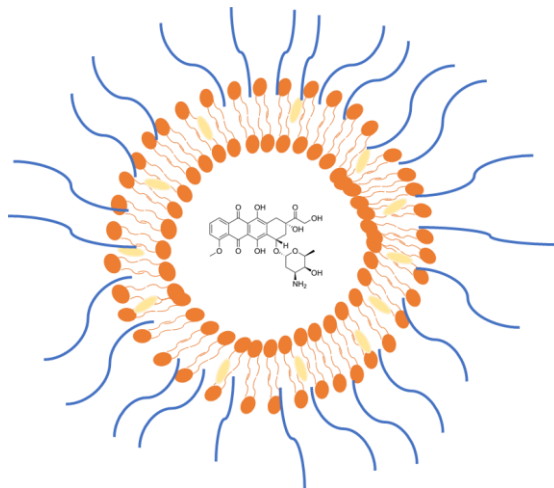


Ilustración 7. Representación esquemática doxorubicina liposomal pegilada

En cuanto al atrapamiento de la doxorubicina en el interior del liposoma, supone un gran reto alcanzar una encapsulación lo suficientemente alta como para conseguir concentraciones eficaces debido al pequeño tamaño que presenta el núcleo, siendo este un punto crítico de la elaboración de la formulación. Por otra parte, los liposomas deben mantener el principio activo retenido en el interior del liposoma durante el tiempo que se encuentren en circulación sanguínea antes de llegar al tejido diana.

Para Doxil®/Caelyx® se han conseguido concentraciones altas y estables de principio activo en el interior liposomal, llevando a cabo la encapsulación mediante un gradiente de sulfato de amonio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (Ilustración 8). Este método consigue una eficiencia de encapsulación de doxorubicina superior al 90%. El principio activo en el núcleo liposomal se presenta en forma de precipitado cristalino de un diámetro que oscila entre los 8 y 9 nm, hecho que

contribuye a la estabilidad del atrapamiento. Este es un proceso reversible y por ello no afecta a la acción farmacológica del principio activo una vez que es liberada del liposoma.

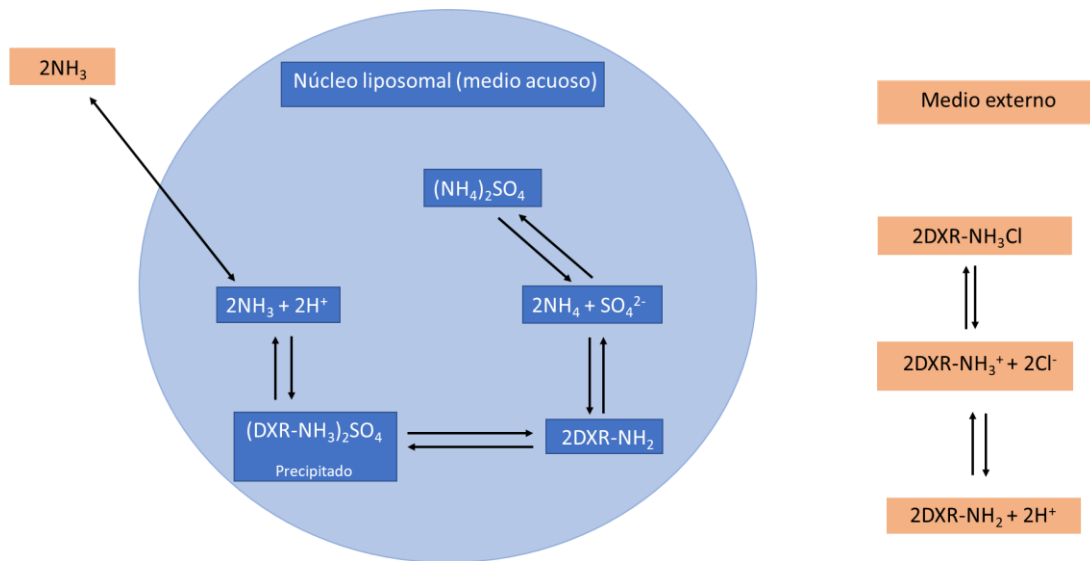


Ilustración 8. Procedimiento de encapsulación de la doxorubicina

Una de las cuestiones que aún está por aclarar es el mecanismo por el cual la doxorubicina, una vez que el liposoma ha llegado a su lugar de acción, se libera. La hipótesis más aceptada se basa en que el amoníaco que se encuentra en el microambiente de las células tumorales ayuda a la liberación de la doxorubicina. Sin embargo, PEG es una molécula de gran tamaño que puede disminuir la acumulación de principio activo en el tejido tumoral.

Además, se presentan mejoras farmacocinéticas ya que se mejora la vida media del principio activo pasando a ser de 50- 80 horas frente a unas horas que es la vida media de la doxorubicina libre así como un aumento de la biodisponibilidad cercano a 70 veces más que el principio activo libre.

Por otro lado, la curva de concentración es diferente, para la doxorubicina libre se presenta en dos fases al igual que para Doxil<sup>®</sup>/Caelyx<sup>®</sup>, pero con diferencias significativas. La doxorubicina libre presenta una distribución inicial rápida con una vida media de entre 5 y 10 minutos, y una segunda fase de eliminación en la que la vida media es de aproximadamente 29 horas. Por el contrario, la curva de concentración plasmática del sistema liposomal pegilado presenta dos fases, en la primera una pequeña fracción de la dosis es eliminada de circulación sanguínea con una vida media de entre 1 y 3 horas, y la segunda fase de distribución es más prolongada llegando a alcanzar las 45 horas, que corresponde a alrededor del 95% de la biodisponibilidad en humanos. En resumen, se puede concluir que al comparar las dos formulaciones, con Doxil<sup>®</sup> se consigue una mayor biodisponibilidad cercana a 300 veces superior a la doxorubicina libre (17).

Otra de las mayores ventajas que presenta esta formulación es la reducción de la concentración de doxorubicina que llega al miocardio en comparación con la que lo hace con la doxorubicina libre. En animales, al estudiar la distribución tisular de la doxorubicina liposomal pegilada se observó que la fracción que llega a hígado es superior que la que lo

hace en el caso de la doxorubicina libre. Además, también se observan concentraciones aumentadas de doxorubicina por el transporte liposomal en piel y en tejido tumoral, que presentan una ventaja con respecto a la doxorubicina libre, si bien es verdad que este pico de concentración ocurre 40 horas después de la administración.

El estudio de la distribución tisular en pacientes es más complejo. En la fase I de los ensayos clínicos, se observó un pico de acumulación de principio activo entre los 3 y 7 días después de la perfusión. Y en fase III se demostró mejoras en la respuesta a esta formulación frente a las terapias convencionales.

En cuanto al mecanismo por el cual los liposomas pegilados cargados con doxorubicina se acumulan en el tejido tumoral, se cree que cruzan la vasculatura tumoral, pasando del plasma donde las concentraciones de fármaco son muy altas al fluido intersticial del tejido tumoral. Este proceso es lento y por lo cual se requiere que los liposomas estén el tiempo suficiente en circulación sanguínea. Una vez que el sistema liposomal ha llegado al tejido diana no se tienen claros los mecanismos por los cuales la doxorubicina se libera, sin embargo, se cree que se debe a una pérdida de la integridad de la bicapa lipídica.

Sin embargo, esta formulación conlleva en un alto porcentaje de pacientes a eritrodisestesia palmoplantar, también conocido como síndrome pie-mano (SPM), que causa erupciones cutáneas tanto en las palmas de las manos como en las plantas de los pies. Este síndrome es dosis-limitante y causa la interrupción del tratamiento durante dos semanas y cuando se retoma, se hace con una dosis menor.

### **5.4.3 Doxorubicina liposomal (Myocet®)**

La búsqueda de sistemas estables de doxorubicina que no causen efectos adversos como SPM seguía siendo necesaria, según lo expuesto hasta el momento. De esta forma, se llevó a cabo una nueva variante de doxorubicina liposomal, en este caso, no pegilada. Este sistema aporta mayor seguridad, no solo respecto a la doxorubicina convencional, si no también respecto a Doxil®/Caelyx®, debido a que reduce tanto la cardiotoxicidad asociada a doxorubicina como el SPM asociado a las formulaciones de doxorubicina liposomal pegilada.

Myocet® es un sistema de doxorubicina no pegilado aprobado cinco años después de la aprobación de Doxil®/Caelyx®, tanto en Europa como en Estados Unidos y Canadá. Este medicamento está indicado para el tratamiento de cáncer de mama metastásico en combinación con ciclofosfamida (18). Este nuevo medicamento presenta mejoras en la farmacocinética y en el perfil tóxico comparado con doxorubicina convencional, además de no presentar el síndrome pie-mano sin perder eficacia. Esta formulación es administrada por vía parenteral mediante perfusión durante una hora y se da en ciclos de 3 semanas.

En este caso, el sistema se basa en una membrana liposomal de fosfatidilcolina y colesterol en cuyo seno queda atrapado el principio activo (Ilustración 9). La encapsulación del fármaco en el seno liposomal se lleva a cabo mediante un gradiente de pH, habiendo en el interior liposomal un tampón citrato, formándose un complejo entre la doxorubicina y el citrato el cual consigue una liberación más lenta de la doxorubicina encapsulada, minimizando las

reacciones adversas que pudieran ocurrir por la extravasación de la molécula. De esta forma se consigue una eficacia de encapsulación cercana al 95% (19).

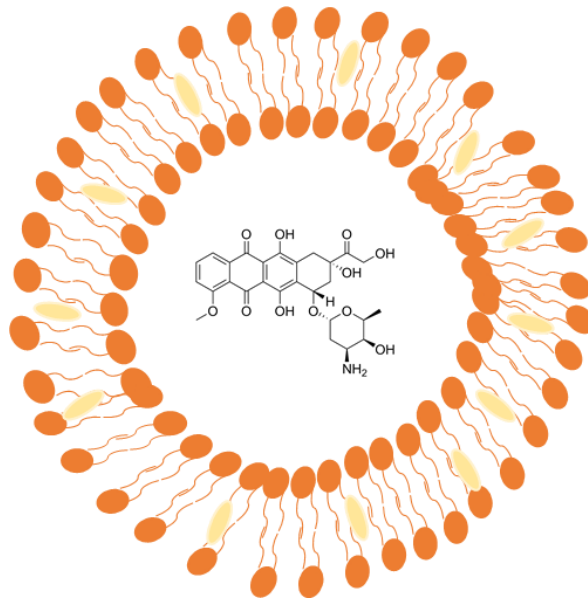


Ilustración 9. Representación esquemática de doxorubicina liposomal no pegilada

Respecto a las mejoras farmacocinéticas que presenta esta formulación, cabe destacar que se observa una biodisponibilidad 20 veces mayor que el perfil de formulación de doxorubicina convencional. En las fases previas a la comercialización de este fármaco, se observó en pacientes tratados con esta formulación por vía intravenosa, frente a pacientes tratados con doxorubicina no liposomal, que presentaba menor cardiotoxicidad, así como un aumento de la dosis acumulada a partir de la cual se produce la misma. Además, se observó una eficacia similar entre ambas formulaciones comparadas, por lo que mejora el beneficio-riesgo.

Uno de los principales inconvenientes de esta formulación está relacionado con su administración, ya que se presenta como un sistema de tres viales: myocet doxorubicina HCl, myocet liposomas y tampón myocet. A partir de los tres viales y una pequeña cantidad de suero, se reconstituye el producto, citrato de doxorubicina liposomal encapsulado.

#### 5.4.4 Comparación Adriamicina® - Doxil/Caelyx® – Myocet®

Tanto Doxil®/Caelyx® como Myocet® han demostrado mejoras en el perfil toxicológico con respecto a Adriamicina. Sin embargo, es importante estudiar las diferencias que presentan las tres formulaciones en el perfil farmacocinético. En plasma, Doxil® es el que presenta un mayor tiempo de permanencia y a los 5 minutos de administración la concentración más alta. Tanto Myocet® como Doxil® presentan una concentración 20 y 50 veces superior respectivamente en sangre con respecto a la que presenta adriamicina (20).

Por otra parte, tras la administración de Doxil®, la concentración de doxorubicina se mantiene alta hasta después de 72 horas mientras que la de Myocet®, disminuye de forma precipitada en dos horas.

En cuanto a la distribución tisular, adriamicina presenta concentraciones mucho más altas en miocardio respecto a las otras dos formulaciones, lo que explica la cardiotoxicidad menor de estas dos formulaciones. Sin embargo, la distribución el resto de tejidos es bastante diferente entre las tres formulaciones por lo que no se podría concluir que sean equivalentes.

Ambas formulaciones liposomales, consiguen concentraciones plasmáticas prolongadas en el tiempo con respecto a la doxorubicina libre lo que se traduce en una distribución tisular más lenta. En la Tabla 1 se muestra una comparativa de los aspectos más relevantes de las tres formulaciones de doxorubicina que se encuentran comercializadas hasta el momento.

	Formulación	Administración	Cardiotoxicidad	Otros efectos adversos	Recurso tecnológico	Beneficio
<b>Adriamicina®</b>	Clorhidrato de doxorubicina	Vía intravenosa Perfusión	Sí	Mielosupresión	-	-
<b>Doxil/Caelyx®</b>	Doxorubicina liposomal pegilada	Vía intravenosa Perfusión	No	Síndrome pie-mano (SPM) Mielosupresión	Sistema liposomal Pegilación	Aumento cantidad de fármaco que llega a tejido tumoral Aumento del tiempo en circulación
<b>Myocet®</b>	Doxorubicina liposomal no pegilada	Vía intravenosa Perfusión	No	Mielosupresión	Sistema liposomal	Aumento cantidad de fármaco que llega a tejido tumoral No produce SPM

Tabla 1. Comparativa de las tres formulaciones de doxorubicina disponibles actualmente en el mercado.

### 5.5 Perspectivas futuras

Dentro de las perspectivas futuras, se plantea el uso de nanopartículas poliméricas, partículas coloidales poliméricas de un tamaño comprendido entre 100 y 1000 nm como una



alternativa para mejorar la terapéutica. Estos transportadores pueden ser producidos a partir de polímeros naturales o sintéticos. En cuanto al método de preparación se puede clasificar en dos grupos: polimerización de monómeros y por dispersión de polímeros preformados. En este caso, los principios activos pueden ser incorporados de diversas formas: por métodos físicos, por reacciones químicas, por adsorción o por absorción.

La principal ventaja de los sistemas nanoparticulares poliméricos respecto a otros sistemas coloidales es su mayor estabilidad *in vitro* e *in vivo*, la gran capacidad de incorporar el principio activo, su biodegradabilidad, la posibilidad de llevar a cabo una liberación controlada así como la capacidad para extravasarse y retenerse en los tejidos debido a su tamaño.

Una de las formulaciones que se creó fue Livatag, un sistema basado en nanopartículas de poliisohexilcianoacrilato cargadas con doxorubicina. En los ensayos clínicos fueron tratados pacientes con cáncer de hígado. En la fase II los resultados pusieron de manifiesto un aumento de la supervivencia media en los pacientes, siendo de 32 meses en contraste con los 15 que alcanzaba el tratamiento de primera línea. Sin embargo, en la fase III no demostró mejoría respecto al *gold standard*. Por lo que este nuevo medicamento no pudo salir al mercado.

Sin embargo, no son pocos los esfuerzos por conseguir desarrollar formulaciones basadas en nanopartículas, de forma que son muchos los nanosistemas que actualmente se encuentran en ensayos clínicos en fase II y fase III aprobados por la EMA o la FDA. Algunos de estos han mostrado resultados esperanzadores, aunque actualmente solo haya aprobadas formulaciones basadas en liposomas (8).

Otros sistemas en estudio para conseguir una terapia más eficaz son: conjugados poliméricos, micelas y dendrímeros, entre otros. Actualmente formas de doxorubicina en micelas poliméricas han mostrado progresos en fases I y II de ensayos clínicos. Estas estructuras micelares muestran gran capacidad para ser excretadas por el riñón y además, si se recubren con PEG se evita la eliminación de la circulación por parte del sistema mononuclear fagocítico de forma que consigue una vida media en plasma alta e incluso se podría vectorizar. Un ejemplo de micelas poliméricas de doxorubicina que se encuentra en ensayos clínicos es NK911, la primera formulación de este tipo que ha conseguido llegar a ensayos clínicos (21). Esta formulación consiste en doxorubicina conjugada con ácido poliaspártico y PEG y su tamaño es alrededor de 40 nm. Una de las principales desventajas que presenta esta formulación recae en que al ser administrada por vía parenteral presenta cierta toxicidad dosis limitante, entre la cual destaca la toxicidad hematológica. Sin embargo, sí que ha continuado a la siguiente fase de ensayos clínicos.

El futuro de los tratamientos usados para el cáncer, va en dirección a ser cada vez más personalizado, basado en la farmacogenética y más vectorizado por lo que se pone de manifiesto la importancia de desarrollar nuevos sistemas que permitan llevar a cabo este tipo de tratamiento, y para dicha función se postulan los nanosistemas, en concreto las nanopartículas, como la opción más indicada.

## 6 Conclusiones

La innovación tecnológica, o galénica, puede conseguir mejorar el balance beneficio-riesgo de un principio activo y, además, conseguir una mayor eficacia del mismo. mejorares el caso de uno de los antitumorales más potentes de los que se dispone: la doxorubicina. Mediante el uso de formulaciones basadas en nanotecnología, en concreto liposomas, se ha conseguido minimizar los efectos adversos dosis-limitante que presentaba la doxorubicina libre, sin perder su eficacia terapéutica.

## 7 Bibliografía

1. Las cifras del cáncer en España [Internet]. 2019 [citado 2019 Oct 31]. [www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-epidemiologia-am-](http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-servicios-cientifico-tecnicos/fd-vigilancias-alertas/fd-epidemiologia-am-)
2. Jones RG, Thompson CB. Tumor suppressors and cell metabolism: A recipe for cancer growth. Vol. 23, Genes and Development. 2009. p. 537–48.
3. Baylin SB, Herman JG. DNA hypermethylation in tumorigenesis: Epigenetics joins genetics. Vol. 16, Trends in Genetics. 2000. p. 168–74.
4. Kulis M, Esteller M. DNA Methylation and Cancer. Vol. 70, Advances in Genetics. 2010. 27–56 p.
5. Nakamura Y, Mochida A, Choyke PL, Kobayashi H. Nanodrug Delivery: Is the Enhanced Permeability and Retention Effect Sufficient for Curing Cancer? Vol. 27, Bioconjugate Chemistry. American Chemical Society; 2016. p. 2225–38.
6. Viallard C, Larrivéé B. Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets. Vol. 20, Angiogenesis. Springer Netherlands; 2017. p. 409–26.
7. Kalyane D, Raval N, Maheshwari R, Tambe V, Kalia K, Tekade RK. Employment of enhanced permeability and retention effect (EPR): Nanoparticle-based precision tools for targeting of therapeutic and diagnostic agent in cancer. Vol. 98, Materials Science and Engineering C. Elsevier Ltd; 2019. p. 1252–76.
8. Cagel M, Grotz E, Bernabeu E, Moretton MA, Chiappetta DA. Doxorubicin: nanotechnological overviews from bench to bedside. Vol. 22, Drug Discovery Today. Elsevier Ltd; 2017. p. 270–81.
9. Ferrari M. Cancer nanotechnology: Opportunities and challenges. Vol. 5, Nature Reviews Cancer. 2005. p. 161–71.

10. Abu Lila AS, Ishida T. Liposomal Delivery Systems: Design Optimization and Current Applications. *Biol Pharm Bull* [Internet]. 2017 [citado 2019 Nov 26];40(1):1–10. [https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/40/1/40\\_b16-00624/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/40/1/40_b16-00624/_article)
11. Rivankar S. An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. *J Cancer Res Ther* [Internet]. 2014 [citado 2019 Nov 10];10(4):853. <http://www.cancerjournal.net/text.asp?2014/10/4/853/139267>
12. Niraula NP, Kim SH, Sohng JK, Kim ES. Biotechnological doxorubicin production: Pathway and regulation engineering of strains for enhanced production. Vol. 87, *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2010. p. 1187–94.
13. Silva EF, Bazoni RF, Ramos EB, Rocha MS. DNA-doxorubicin interaction: New insights and peculiarities. *Biopolymers* [Internet]. 2017 Mar [citado 2019 Oct 23];107(3). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27718222>
14. Luu AZ, Chowdhury B, Al-Omran M, Teoh H, Hess DA, Verma S. Role of Endothelium in Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy. Vol. 3, *JACC: Basic to Translational Science*. Elsevier Inc; 2018. p. 861–70.
15. Caelyx | European Medicines Agency [Internet]. [citado 2019 Dic 23]. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/caelyx>
16. Gabizon AA, Patil Y, La-Beck NM. New insights and evolving role of pegylated liposomal doxorubicin in cancer therapy. *Drug Resist Updat*. 2016;29:90–106.
17. Gabizon A, Shmeeda H, Barenholz Y. Pharmacokinetics of pegylated liposomal doxorubicin: Review of animal and human studies. Vol. 42, *Clinical Pharmacokinetics*. 2003. p. 419–36.
18. Myocet liposomal (previously Myocet) | European Medicines Agency [Internet]. [citado 2019 Dic 23]. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/myocet-liposomal-previously-myocet>
19. Batist G, Barton J, Chaikin P, Swenson C, Welles L. Myocet (liposome-encapsulated doxorubicin citrate): A new approach in breast cancer therapy. *Expert Opin Pharmacother*. 2002 Dec 1;3(12):1739–51.

20. Luo R, Li Y, He M, Zhang H, Yuan H, Johnson M, et al. Distinct biodistribution of doxorubicin and the altered dispositions mediated by different liposomal formulations. *Int J Pharm.* 2017;
21. Shafei A, El-Bakly W, Sobhy A, Wagdy O, Reda A, Aboelenin O, et al. A review on the efficacy and toxicity of different doxorubicin nanoparticles for targeted therapy in metastatic breast cancer. Vol. 95, *Biomedicine and Pharmacotherapy.* Elsevier Masson SAS; 2017. p. 1209–18.
22. Ficha técnica de los medicamentos con Doxorubicina. Centro de Información online de medicamentos de la AEMPS. CIMA-AEMPS. <https://cima.aemps.es/cima/publico/lista.html> (última revisión 30/01/2020).