



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

TRABAJO FIN DE GRADO
INNOVACIÓN TECNOLÓGICA DE APLICACIÓN EN
FÁRMACOS ANTICANCEROSOS

Autor: Pablo Yzquierdo Cuenca

Tutora: M^a Esther Gil-Alegre

Convocatoria: Junio 2019

ÍNDICE

1. Resumen y palabras clave.....	3
2. Introducción.....	3
Concepto de cáncer.....	3
Factores de riesgo.....	4
Principales grupos de quimioterápicos.....	6
Situación en España.....	8
3. Objetivo.....	8
4. Material y métodos.....	9
5. Resultados y discusión.....	9
Ultrasonidos.....	9
Partículas de albúmina.....	10
Liposomas.....	12
Calidad por diseño (QbD).....	14
6. Conclusión.....	17
7. Bibliografía.....	18

1. RESUMEN

El cáncer es una enfermedad producida por alteraciones en la señalización que regula el ciclo celular. Es la primera causa de muerte a nivel mundial; la primera en hombres y la segunda en mujeres. Entre los principales factores de riesgo se encuentran la edad, el tabaco, las radiaciones, los factores ambientales y el alcohol. Actualmente, la innovación tecnológica farmacéutica está contribuyendo a mejorar la calidad de vida de los pacientes. En este trabajo se habla sobre los hallazgos encontrados en innovaciones basadas en el empleo de ultrasonidos, partículas de albúmina, liposomas y obtención de medicamentos empleando el concepto de calidad por diseño (Quality by Design –QbD-). Los ultrasonidos han demostrado contribuir a la mejora de la selectividad de las nanopartículas hacia las células tumorales. Las partículas de albúmina conjugada con quimioterápico imitan la vía gp60, mediante la cual las células asimilan los nutrientes unidos a la albúmina. Respecto a los liposomas, se ha demostrado que la IL2 es menos tóxica y más eficaz cuando es transportada por liposomas que cuando va libre en sangre. La calidad por diseño es una disciplina que asegura que tener el proceso de obtención de un medicamento bajo control asegura la calidad del producto final. En este trabajo se menciona una comparación de una nanosuspensión de gefitinib (elaborada según QbD) con una solución estándar de ese mismo fármaco.

Palabras clave: cáncer, innovación tecnológica, nanopartículas, ultrasonidos, vía gp60, calidad por diseño (QbD), liposomas.

2. INTRODUCCIÓN

i) Concepto de cáncer

Se entiende por cáncer la enfermedad producida por una alteración en el control de la proliferación celular, de modo que las células proliferan de forma rápida e incontrolada, como se observa en la figura 1. Todo empieza por una mutación en un protooncogén o en un gen supresor de tumores. Entonces se producen alteraciones en el ciclo celular, pasando por **hiperplasia, displasia y tumor maligno, con capacidad de invasión de órganos adyacentes**, lo que conocemos con el término **metástasis**.

El **diagnóstico precoz** es una de las medidas más importantes, que permite tratar el cáncer lo antes posible.

Los tratamientos del cáncer incluyen cirugía, radioterapia y quimioterapia.

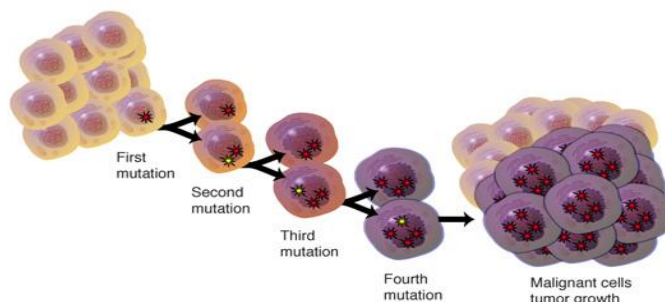


Figura 1: Progresión del cáncer [1]

ii) Factores de riesgo [1]

La prevención primaria del cáncer (y de cualquier enfermedad) consiste en controlar adecuadamente los factores de riesgo modificables [1]. La mayoría de los factores de riesgo de cáncer (y los factores protectores) se identifican inicialmente en estudios epidemiológicos. En estos estudios, los científicos observan muestras grandes de personas y comparan a quienes padecen cáncer con quienes no lo padecen. Estos estudios pueden mostrar que las personas que presentan cáncer tienen más o menos probabilidad de comportarse en cierta manera o de haberse expuesto a ciertas sustancias que quienes no presentan cáncer. Tales estudios, por sí solos, no pueden probar que un comportamiento o una sustancia causan cáncer.

Hay multitud de factores de riesgo asociados con el cáncer:

Por un lado existen los **marcadores de riesgo**, que son **factores de riesgo propios, inamovibles**. Estos son, principalmente, el sexo, la edad y los antecedentes familiares. Por ejemplo, el hecho de ser varón es un marcador de riesgo de cáncer de próstata.

Por otro lado existen **factores de riesgo modificables**, que son comunes a muchas enfermedades [2]. Algunos ejemplos son los siguientes:

a) TABACO: fumar es la principal causa de muerte prematura por cáncer en España. Está relacionado no solo con el cáncer de pulmón, sino con otros tipos de cáncer, como el de vejiga, laringe, boca, esófago, garganta, riñón, hígado, estómago, colorrectal, páncreas cérvix e incluso leucemia mieloide aguda. La incidencia depende de la edad de inicio, número de cigarrillos y duración del hábito. No solo afecta a la gente que fuma, sino también a los no fumadores que están presentes en ambientes con tabaco (fumadores pasivos).. Actúa sobre el DNA, induciendo mutaciones, y también debilita el sistema inmune, lo que provoca que el organismo no responda adecuadamente a agentes agresivos, sean microorganismos, parásitos o tumores. El riesgo atribuible para cáncer de pulmón asciende hasta el 90%. **La cuarta parte de las muertes por cáncer a nivel global son debidas al tabaco.** Por ello, la medida más importante para los fumadores es el esfuerzo por dejar de fumar, combinando psicoterapia con tratamiento farmacológico. Se ha observado una ganancia sustancial de años de vida en los que dejan de fumar respecto a los que continúan fumando [3].

b) ALCOHOL: el alcohol es la primera toxicomanía en España, y cada año se está empezando a dar en población más joven. El alcohol no solo está asociado con daño hepático y cerebral, sino también es un factor de riesgo de determinados cánceres, ya que su metabolito (acetaldehído) provoca daño en el DNA. Los cánceres en los que se observa riesgo con el alcohol son garganta, esófago, laringe, hígado y mama, como se observa en la figura 2. Los doctores aconsejan a los bebedores la moderación (máximo una bebida diaria en mujeres y dos en hombres). Se ha sugerido que algunas sustancias del vino, como el resveratrol, tienen propiedades contra el cáncer, dada su capacidad antioxidante. Pero no hay evidencia de que el consumo de vino reduzca el riesgo de cáncer [4].

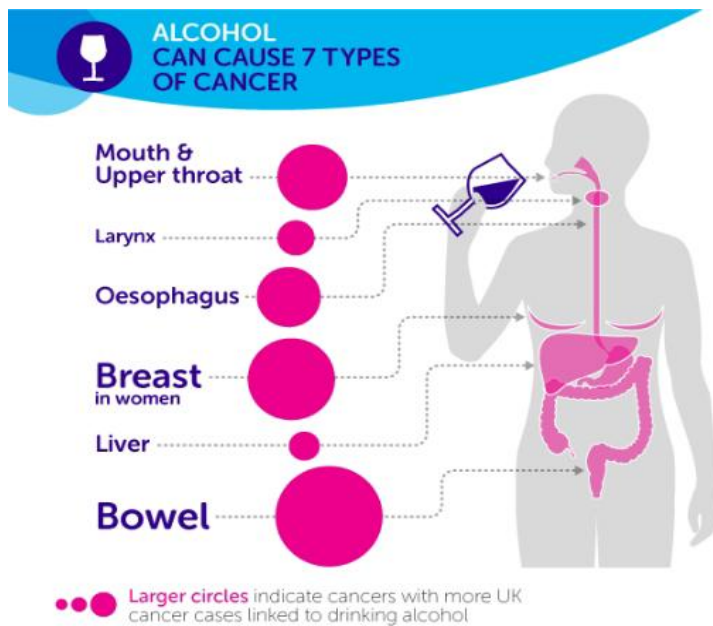


Figura 2: Cánceres más asociados con alcohol [1]

c) **DIETA:** en ciertos alimentos de nuestra dieta ha sido demostrada su asociación con cáncer, como por ejemplo los productos a la brasa (HAP; hidrocarburos aromáticos policíclicos), o las patatas fritas de bolsa (acrilamida). La asociación es concluyente en animales, pero no en humanos. Sin embargo, en otros productos como el té (antioxidantes), ajo (compuestos azufrados) y crucíferas (glucosinolatos) se sospecha sobre su acción preventiva contra el cáncer, pero tampoco existe evidencia completa [5].

d) **OBESIDAD:** es la segunda causa de muerte prevenible en España, detrás del tabaco. A parte de estar muy relacionada con la diabetes mellitus tipo 2 y con enfermedades cardiovasculares (ECV), también es un factor de riesgo de cánceres como el colorrectal, mama, útero, esófago, páncreas, vesícula biliar y riñón, como se observa en la figura 3 [6].

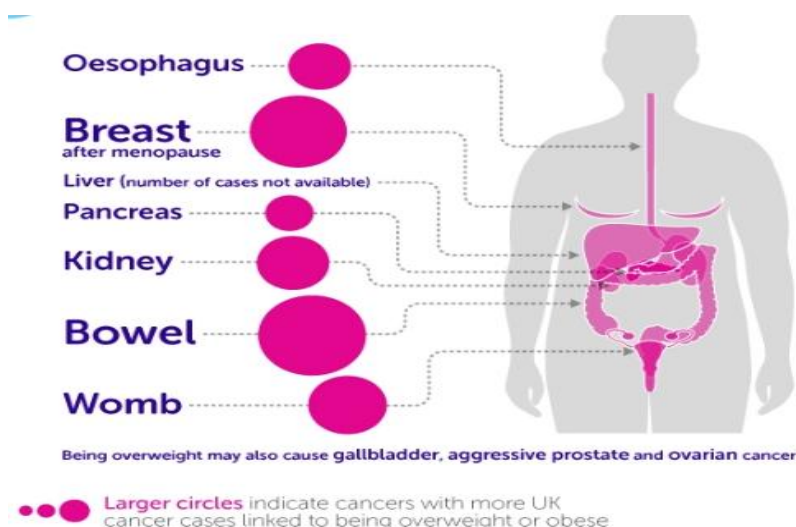


Figura 3: Cánceres más asociados con obesidad [1]

e) **AGENTES BIOLÓGICOS:** algunos gérmenes infecciosos están relacionados con determinados tipos de cáncer. Los ejemplos más destacados están en *Helicobacter pylori* (cáncer gástrico y linfoma MALT (linfoma de revestimiento del estómago)), virus de las hepatitis B y C (cáncer hepático), virus del papiloma humano (cáncer de cérvix, anal, orofaríngeo, pene, vulva y vagina), parásitos como *Opisthorchis viverrini* (colangiocarcinoma) y *Schistosoma haematobium* (cáncer de vejiga). El VIH se le destaca por su asociación indirecta con el cáncer, ya que al debilitar el sistema inmunitario, aumenta el riesgo de infecciones que causen cáncer [7].

f) **FACTORES AMBIENTALES:** se puede evitar la exposición a algunos componentes del ambiente como el tabaco o las radiaciones ultravioletas de forma prolongada. Sin embargo, hay otros cuya exposición es más inevitable porque están presentes en el agua de bebida, en el aire que se respira, en los alimentos o en el lugar donde se trabaja. Entre muchas sustancias caben destacar dioxinas, policlorobifenilos (PCBs), cadmio, benceno, aflatoxinas, plaguicidas y el amianto (este último más relacionado con cáncer de pulmón) [8].

g) **YATROGÉNESIS:** fármacos como los de la terapia hormonal sustitutiva (THS) para la menopausia son también un factor de riesgo para determinados cánceres, sobre todo el de mama. Aumentos en la exposición a la THS se justifican por una primera menstruación temprana, inicio tardío de la menopausia, tener más años cuando sucede el primer embarazo o no haber dado nunca a luz. En este sentido, se ha demostrado que dar a luz es un factor protector contra el cáncer de mama [9].

iii) Principales grupos de quimioterápicos [10]

a) **ANTIMETABOLITOS:** interfieren en la síntesis de DNA y RNA, provocando que la célula pierda la capacidad de dividirse. Los antimetabolitos se clasifican de acuerdo con las sustancias con que interfieren:

a1) **Antagonistas del ácido fólico:** metotrexato.

a2) **Antagonistas de la pirimidina:** 5-fluorouracilo, pemetrexed, floxuridina, citarabina, trifluridina, capecitabina. Inhiben la timidilato sintasa.

a3) **Antagonistas de las purinas:** 6-mercaptopurina, 6-tioguanina.

a4) **Inhibidores de adenosina desaminasa:** pentostatina, cladribina, fludarabina, nelarabina [11]

b) **PRODUCTOS NATURALES:**

b1) **Antimitóticos:** se unen a la tubulina, inhibiendo así la mitosis. Los **alcaloides de la Vinca de Madagascar** (*Catharantus roseus*), que son principalmente **vincristina, vinorelbina y vinblastina** inhiben la formación de los microtúbulos. Los **taxanos** (**paclitaxel, docetaxel**) estabilizan la estructura de los microtúbulos, haciendo la mitosis poco funcional [10].

b2) Inhibidores de topoisomerasas:

- **Topoisomerasa I:** camptotecina, irinotecán, topotecán. La camptotecina se obtiene del *árbol de la felicidad asiático* (*Camptoteca acuminata*).
- **Topoisomerasa II:** etopósido, tenopósido (derivados de la podofilotoxina) y antraciclinas (doxorubicina, daunorubicina).

b3) Antibióticos: son producidos por especies de hongos del género *Streptomyces*. Tienen origen, estructura y mecanismos de acción muy diversos (intercalantes, inhibidores de topoisomerasas, alteradores de la membrana), y son específicos del ciclo celular. Existen varios tipos:

- **Antraciclinas:** doxorubicina, daunorubicina, idarubicina, mitoxantrona, epirubicina.
- **Cromomicinas:** dactinomicina, plicamicina.
- **Otros:** mitomicina C, bleomicina [11].

b4) Enzimas: las más destacadas son la crisantaspasa (o L-asparaginasa) y la pegaspargasa, que desamina la asparagina, privando de actividad a la célula tumoral, ya que la haría incapaz de sintetizar dicho aminoácido [10].

c) AGENTES ALQUILANTES Y FORMADORES DE ENLACES CON EL DNA: al formar dichos enlaces, se inhibe la replicación del DNA, y por ello también la transcripción y traducción, ya que impide la separación de las dos hebras. Alcanzan su mayor nivel de actividad durante la fase de reposo celular. No son específicos del ciclo celular. Existen varios tipos de agentes alquilantes:

c1) Derivados del gas mostaza: mecloretamina, ciclofosfamida, clorambucil, melfalán e ifosfamida. Se suelen asociar con Mesna (2-sulfaniletansulfonato de sodio) para prevenir las cistitis hemorrágicas que producen los fármacos de este grupo.

c2) Etileniminas: tiotepa y hexametilmelamina.

c3) Alquilsulfonatos: busulfán.

c4) Hidrazinas y triazinas: altretamina, procarbazona, dacarbazina y temozolomida.

c5) Nitrosureas: carmustina, lomustina y estreptozocina. Las nitrosureas son únicas debido a que, a diferencia de la mayoría de los tipos de tratamiento de quimioterapia, éstas pueden atravesar la barrera hematoencefálica (sangre-cerebro). Pueden ser útiles para el tratamiento de tumores cerebrales.

c6) Sales de metal: carboplatina, cisplatina y oxaliplatina. Se caracterizan por los fuertes vómitos que generan como efecto adverso. Dichos vómitos requieren de la administración de antieméticos fuertes, principalmente antagonistas del receptor de serotonina 5HT3 (ondansetrón, propiosetrón) [11].

d) OTROS: antagonistas de hormonas (tamoxifeno), anticuerpos monoclonales, inhibidores de tirosin-kinasa (gefitinib), retinoides (isotretinoína)... [10].

iv) Situación en España [12]

En España, el cáncer es la segunda causa de mortalidad, después de las enfermedades cardiovasculares (ECV). Si se estudia a la población por género, el cáncer es la primera causa de muerte en varones (seguida de las ECV) y la segunda en mujeres (después de las ECV). En el año 2016, un 27,5% de las defunciones fueron debidas al cáncer.

Los últimos datos de los que se dispone de información son del año 2017 (INE). En dicho año, los tumores con mayores índices de mortalidad fueron pulmón, colon, mama, páncreas, próstata, hígado y vías biliares, ordenadas de mayor a menor tasa de mortalidad en ambos sexos.

Para reducir la mortalidad, es crucial el diagnóstico y el tratamiento precoz. Actualmente, la mortalidad por cáncer ha disminuido gracias a los nuevos tratamientos que se han ido descubriendo.

Pero es necesaria una innovación tecnológica para reducir aún más la morbimortalidad.

En este entorno se plantea el presente trabajo.

3. OBJETIVO

El objetivo de este trabajo es la realización de una revisión bibliográfica sobre nuevas tecnologías farmacéuticas de aplicación en la quimioterapia antineoplásica, ya que actualmente el cáncer continúa teniendo unos altos índices de mortalidad. Por ello, sigue siendo muy necesaria la investigación bioquímica, radiológica, galénica y clínica.

Respecto a las nanopartículas se está observando en estudios, que contribuyen a la cura contra el cáncer. Ejemplos de nanopartículas son las de albúmina-paclitaxel (Abraxane®) o los liposomas. También se ha realizado mucha investigación en el área de los ultrasonidos, como estrategia para mejorar la selectividad de las nanopartículas hacia las células tumorales.

Y otro aspecto en el que se está profundizando más hoy en día es en el de la calidad por diseño (QbD), no solamente para el cáncer sino también para otras patologías. Es una estrategia de innovación basada en el control del proceso de fabricación para obtener un medicamento de calidad. Es por tanto una forma de optimizar la obtención de medicamentos, que recientemente se está aplicando a la obtención de medicamentos antineoplásicos.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Con el objetivo de obtener información relativa al tema en cuestión, se ha realizado una búsqueda bibliográfica de artículos de PubMed en inglés, y de revistas como los Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia. Asimismo, se han consultado datos del Instituto Nacional de Estadística y material docente de Salud Pública (asignatura del 5º curso del Grado en Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid) para obtener información acerca de la panorámica actual del cáncer. Toda esta búsqueda se ha realizado durante el curso académico 2018-2019.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ultrasonidos [13]

Actualmente, se ha empleado la técnica de los ultrasonidos para la mejora en el envío selectivo de complejos de nanopartículas a células cancerosas. Se ha descubierto su efectividad como forma de hacer frente a las resistencias a los anticancerosos. En este trabajo se presenta un estudio en donde se demuestra el efecto coadyuvante de los ultrasonidos de muy poca intensidad (VLIUS; *very low intensity ultra-sounds*). Corresponden a intensidades por debajo de 120 mW/cm^2 (70,8 dB). El estudio trata de demostrar cómo el VLIUS contribuía a incrementar la eficacia de la trabectedina. La trabectedina es una ecteinascidina, un tipo de alcaloide marino producido por el alga marina *Ecteinascidia turbinata*, con propiedades anticancerosas, ya que desestabiliza la doble hélice del DNA. El estudio se llevó a cabo en células de liposarcoma mixoide, tanto en células sensibles como en resistentes al principio activo en cuestión. Los resultados del ensayo en células **sensibles** concluyeron que solamente la trabectedina mataba a la mitad de las células de la muestra, pero si se la complementaba con VLIUS entre 1 a 5 minutos, el porcentaje de mortalidad ascendía al 85%. Respecto a las células **resistentes**, la asociación de trabectedina con 15 minutos de VLIUS, provocaba una muerte del 20% de las células resistentes. Esto implica que los ultrasonidos cooperaban en la captación de la trabectedina por parte de las células tumorales. Por otra parte, en células sanas no se ha visto que sean alteradas por el VLIUS, lo cual lleva a concluir que el VLIUS genera respuestas muy diferentes entre células tumorales y células sanas. Parece ser que el VLIUS provoca la formación de poros en las células tumorales, lo que favorecería la difusión de nanopartículas y muchas sustancias pequeñas, como la trabectedina. En la figura 4 se representa el porcentaje de células viables, tanto de las sensibles como de las resistentes, a diferentes tiempos de aplicación del VLIUS.

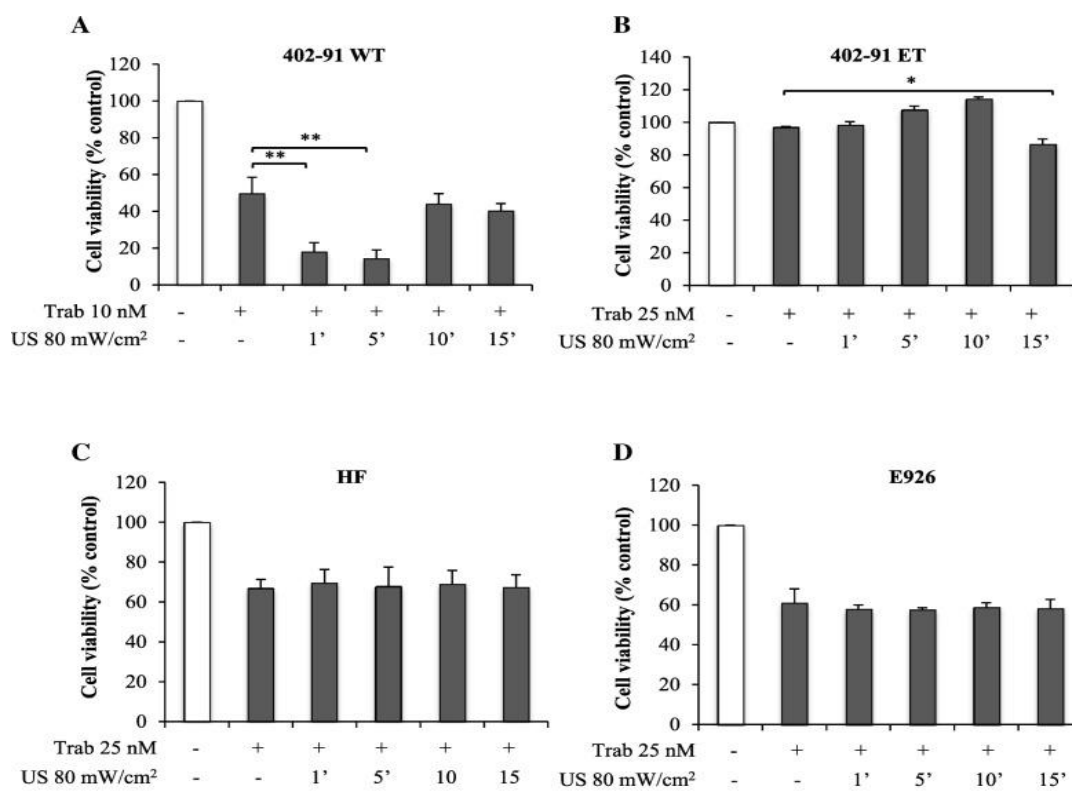


Figura 4: Viabilidad celular tras la aplicación del VLIUS [13]: las barras blancas representan las células control, es decir, aquellas que no han recibido ni fármaco ni ultrasonidos. En cada gráfica, la barra posterior a la blanca se corresponde con el porcentaje de células viables tras haber aplicado solamente la trabectedina. Y las siguientes barras representan el porcentaje de células viables tras la aplicación de trabectedina y diferentes tiempos de ultrasonidos (1, 5, 10 y 15 minutos, respectivamente). 402-91 WT=línea de células tumorales sensibles a trabectedina; 402-91-ET=línea de células tumorales resistentes a trabectedina; HF y E926=líneas celulares sanas.

Partículas de albúmina [14]

Actualmente existe un medicamento que contiene nanopartículas de albúmina conjugada con paclitaxel, llamado **Abraxane®**. En la figura 5 se representa un modelo de dichas nanopartículas, y en la figura 6 se muestran dichas nanopartículas fluyendo por la sangre. El mecanismo de acción de estas nanopartículas se basa en que los tumores captan los nutrientes que transporta la albúmina, la proteína más abundante que tiene el organismo. La vía que utilizan los tumores para captar nutrientes de la albúmina es la **vía gp60**. Gp60 son unos receptores que existen en la superficie del endotelio vascular. Estos receptores se unen a la albúmina conjugada. Dicha unión activa a una proteína de membrana conocida como **caveolina1**. Esta activación lleva a la formación de unas vesículas que se fusionan con la membrana del endotelio, para que su contenido salga al espacio intersticial. Para que los nutrientes accedan al tumor, tienen que atravesar la membrana de las células tumorales. Para ello, el tumor secreta una proteína, **SPARC** (siglas en inglés de Proteína secretada ácida y rica en cisteína). Esta se une al complejo albúmina-nutriente, y la albúmina libera dichos nutrientes, por un mecanismo activado por ácidos grasos. Los nutrientes liberados acceden así al interior de las células tumorales. Estas nanopartículas actúan por esta vía gp60, pero la diferencia es que se sustituyen los nutrientes por paclitaxel. Entonces, SPARC se une al complejo albúmina-paclitaxel, y el paclitaxel es liberado hacia la célula tumoral y provoca su muerte,

reduciendo el tamaño del tumor pudiendo llegar a su eliminación total. En la figura 7 se muestra un esquema de la vía de funcionamiento de estas nanopartículas.

Por tanto con estas nanopartículas se aprovecha la mayor permeabilidad de los vasos que riegan a los tumores, su limitada capacidad de drenaje, la activación de la vía gp60 y la habilidad para secretar SPARC (afín por la albúmina).

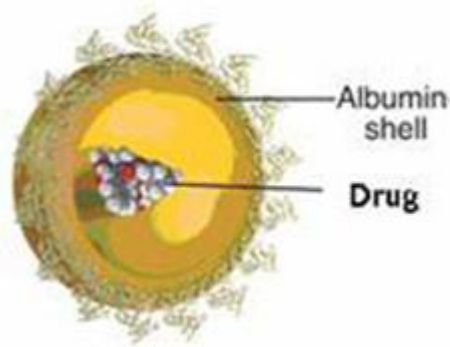


Figura 5: Nanopartícula de albúmina y paclitaxel (130 nm de diámetro)

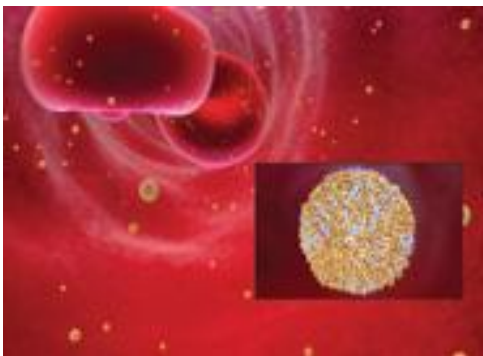


Figura 6: Nanopartículas de albúmina y paclitaxel circulando por sangre

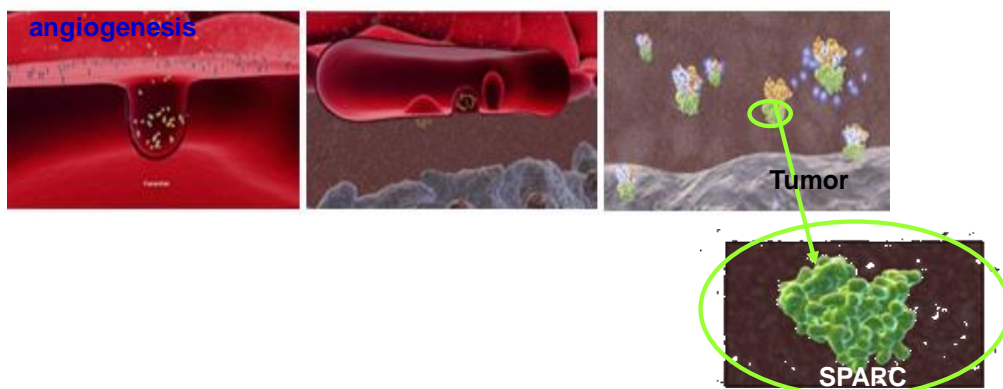


Figura 7: Funcionamiento de las nanopartículas de albúmina

Liposomas [15]

Se denominan liposomas a los nanotransportadores constituidos por una bicapa de lípidos anfipáticos separados por un compartimento acuoso. La IL2 fue aprobada por la FDA como fármaco quimioterápico antineoplásico, por la capacidad que tiene de activar a los linfocitos T CD8 y a las células NK. En el ámbito del cáncer, se ha realizado un estudio que trata de proponer los liposomas transportadores de interleucina 2 (IL2) como remedio frente al cáncer de cérvix, en lugar de la administración de IL2 libre, que es altamente tóxica. Se planteó diseñar liposomas que no fuesen reconocidos por los macrófagos y que fuesen capaces de transportar IL2. La explicación de este estudio fue debido al descubrimiento de la presencia de receptores de IL2 en células tumorales uterinas (IL2R). Se trata de demostrar la eficacia de estos nanotransportadores en la reducción de tumores inducidos en ratones de experimentación. La población de estudio se dividió en tres grupos: el grupo control (sin tratamiento, solamente tumor), el grupo tratado con IL2 libre, y el grupo tratado con IL2 en liposomas. Los tratamientos se aplicaron una vez al día durante cinco días. Tras los cinco días, se sacrificaron los animales, se realizó una inspección minuciosa para observar los efectos adversos, y se llevó a cabo un examen de cambios morfológicos en el tumor. Para ello se recurrió a una doble fijación, deshidratación, corte, contraste y observación al microscopio electrónico de transmisión (MET). La masa tumoral se calculó asumiendo que cada tumor es similar a una esfera, por ello la unidad de expresión de la masa tumoral fue una unidad de volumen (en mm^3); la fórmula que se aplicó fue la del volumen de una esfera ($\frac{4}{3} \pi r^3$). Para el grupo control, el valor promedio fue de $20,5 \text{ mm}^3$, para el grupo IL2 libre; 3 mm^3 ; y para los ratones tratados con la citoquina en liposomas; 2 mm^3 . Además, los efectos adversos que se observaban en los ratones que recibieron la IL2 libre (inflamación, hemorragia capilar) no se apreciaron en los que recibieron IL2 en liposomas. En la figura 8 se representan la muestra al MET de las células tumorales tras recibir el liposoma, en donde estas empezaban a sufrir daños severos, perdiendo la integridad de sus membranas cuando recibían el liposoma cargado con IL2.

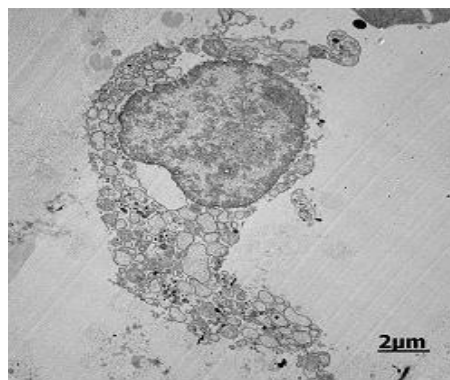


Figura 8: Daños en células tumorales provocados por liposomas de IL2 [15]

Los estudios de estabilidad se llevaron a cabo por citometría de flujo, e hicieron concluir que los liposomas son fotosensibles, tienen un valor de pH y dos valores de temperatura de máxima estabilidad. No se mencionan dichos valores de pH y temperatura porque los liposomas de IL2 están en fase de desarrollo tecnológico para la obtención de la patente de la formulación. En las figuras 9, 10 y 11 se muestran los resultados obtenidos por citometría de flujo para el estudio de la estabilidad a la luz, el pH y la temperatura, respectivamente.

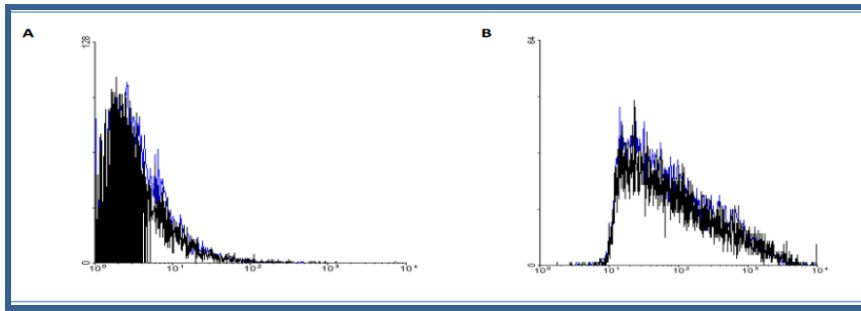


Figura 9: Resultados de la citometría de flujo en cuanto a la fotoestabilidad: comparación de histogramas tras 45 minutos de exposición (A=Complejidad; B=Tamaño)

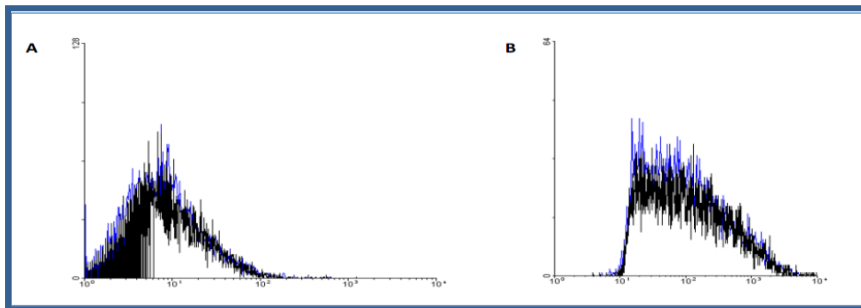


Figura 10: Resultados de la citometría de flujo en cuanto a la estabilidad al pH: comparación de histogramas para el único pH que no mostró diferencia significativa con la conformación inicial (A=Complejidad; B=Tamaño).

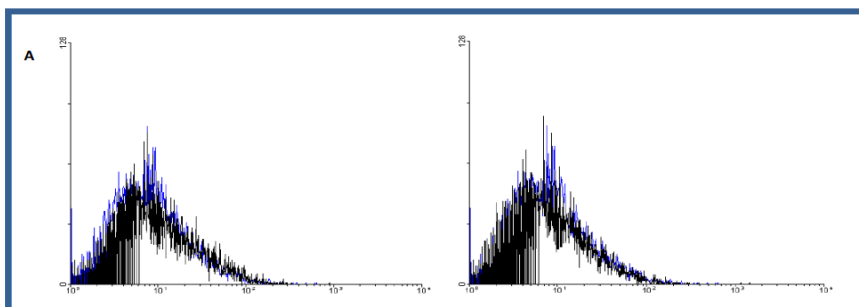


Figura 11: Resultados de la citometría de flujo en cuanto a la estabilidad a la temperatura: comparación de histogramas para dos temperaturas que no mostraron diferencia significativa con la conformación inicial (A=Complejidad; B=Tamaño).

Se observó que los liposomas ayudan al organismo a montar una respuesta inmune antitumoral mediante la activación de las células NK. No solamente los linfocitos tienen receptores para la IL2, sino también las células cancerosas de útero; la razón de su presencia es desconocida, pero se cree que representan una oportunidad para que el sistema inmune intervenga.

La razón de diseñar liposomas con IL2 en su superficie, no solo es provocar que estos se unan a los linfocitos a través de IL2R, sino que actúen como puente de unión entre el tumor y el linfocito, como se observa en la figura 12. Así, el tumor y las células inmunológicas estarían más próximos, y por ello se podría promover la activación del sistema inmune frente al tumor. Se espera que dicha unión pueda contribuir a favorecer el reconocimiento de antígenos tumorales y a la activación de células citotóxicas específicas. En este estudio se presenta evidencia de que los liposomas son capaces de reducir alrededor de un 90% el crecimiento tumoral.

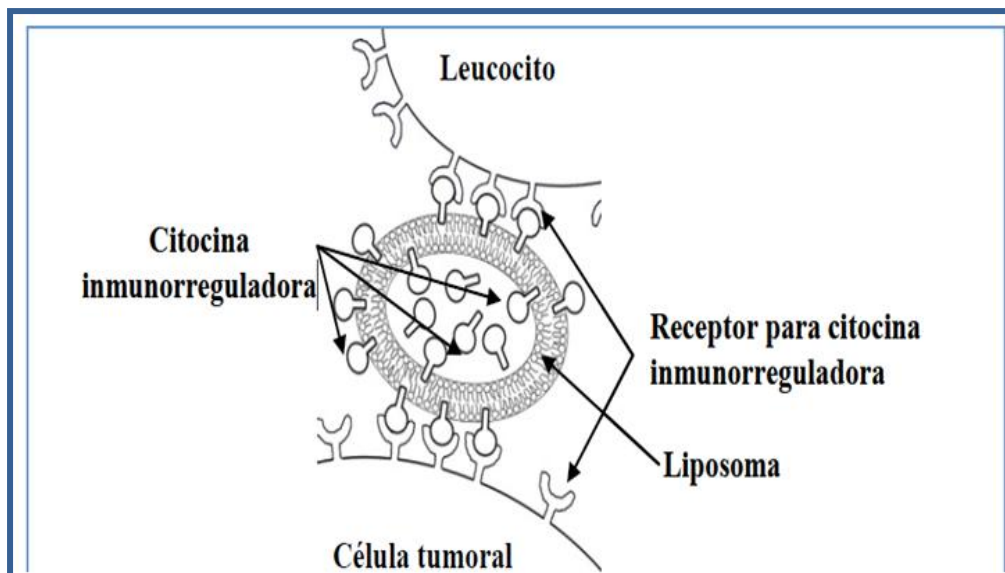


Figura 12: Representación gráfica del posible puente entre el liposoma, la célula tumoral y una célula del sistema inmune [15]

Calidad por diseño (QbD)

La QbD es una estrategia de innovación tecnológica a nivel farmacéutico. Su gran enfoque se centra en asegurar un buen proceso de fabricación para obtener un producto de calidad. Se busca demostrar el conocimiento del producto y de su proceso de fabricación, e indicar áreas donde el demostrar comprensión científica puede crear las bases para la flexibilidad regulatoria. El grado de flexibilidad regulatoria está basado en el nivel de conocimiento científico demostrado [16]. La QbD tiene una serie de etapas:

- Definición del QTPP (*Quality Target Product Profile*).
- Establecimiento de CQAs (*Critical Quality Attributes*).
- Gestión de riesgos de calidad.
- Establecimiento de espacio de diseño (condiciones donde se puede operar con seguridad).
- Estrategias de control.
- Gestión del ciclo de vida del producto (mejora continuada) [16].

En este trabajo se presenta un estudio en donde se aplican los principios de QbD para la preparación de una nanosuspensión de gefitinib.

El **gefitinib** es un inhibidor del receptor del factor de crecimiento epidérmico, de tipo tirosina quinasa. Este fármaco es utilizado en ciertos cánceres como el de colon, ovario, mama y pulmón. En este estudio el gefitinib fue encapsulado en **Eudragit RL100** (polímero de ácido acrílico), y disperso en **polivinilpirrolidona y alcohol polivinílico** [17].

Para determinar el QTPP, se consideraron los posibles riesgos y aspectos regulatorios, prácticos y científicos. Atributos críticos de material (CMAs) y parámetros críticos del proceso (CPPs) fueron seleccionados para alcanzar el objetivo. El planteamiento del estudio aparece en la tabla que se refleja a continuación (tabla 1) en la página siguiente.

Tabla 1: Diseño del estudio.

Abreviaturas: QTPP, perfil de calidad objetivo del producto; CMA, atributos críticos de material; CPP, parámetros críticos del proceso; PDI, índice de polidispersión; AFM, microscopía de fuerza atómica; PVA, alcohol polivinílico; PVP, polivinilpirrolidona; PCS, espectroscopía relacionada con fotones; USP, Farmacopea Americana.

QTPP			CMA			CPP		
Objetivo			Material	N-1	N+1	Parámetro	N-1	N+1
Vía de administración	Oral	<ul style="list-style-type: none"> Falta de toxicidad <u>Método de evaluación:</u> estudios de citotoxicidad	% PVPK30	1	2	Tiempo de sonicación (min)	10	15
Tipo de formulación	Nano-suspensión	<ul style="list-style-type: none"> Tamaño de partícula Índice de polidispersión (PDI) <u>Método de evaluación:</u> uso de espectrometría relacionada con fotones (Malvem Zetasizer)	% PVA	1	3			
Aumentar la biodisponibilidad oral		<ul style="list-style-type: none"> Estudios de liberación in vitro <u>Evaluación:</u> Equipos validados por Farmacopea (USP) Estudios de liberación in vivo <u>Evaluación:</u> método indirecto para evaluar la concentración plasmática de fármaco en ratas 						

Para la evaluación de riesgos de los CQAs (atributos críticos de calidad), se construyó un diagrama de Ishikawa, con el objetivo de identificar los riesgos potenciales y las causas correspondientes que tienen una gran probabilidad de generar un fracaso en el producto final. Dicho diagrama se observa en la figura 13.

Posteriormente, se diseñó el experimento en base a los CMAs (concentraciones de PVA y PVP) y CPPs (tiempo de sonicación). Los CQAs dependen de estos CMAs y CPPs (variables independientes). En este estudio los CQAs fueron el tiempo de polidispersión (PDI), el potencial Z y el tamaño de partícula. Se trabajó con dos niveles de CMAs y CPPs. Por tanto el diseño experimental fue de $2^3=8$ experimentos.

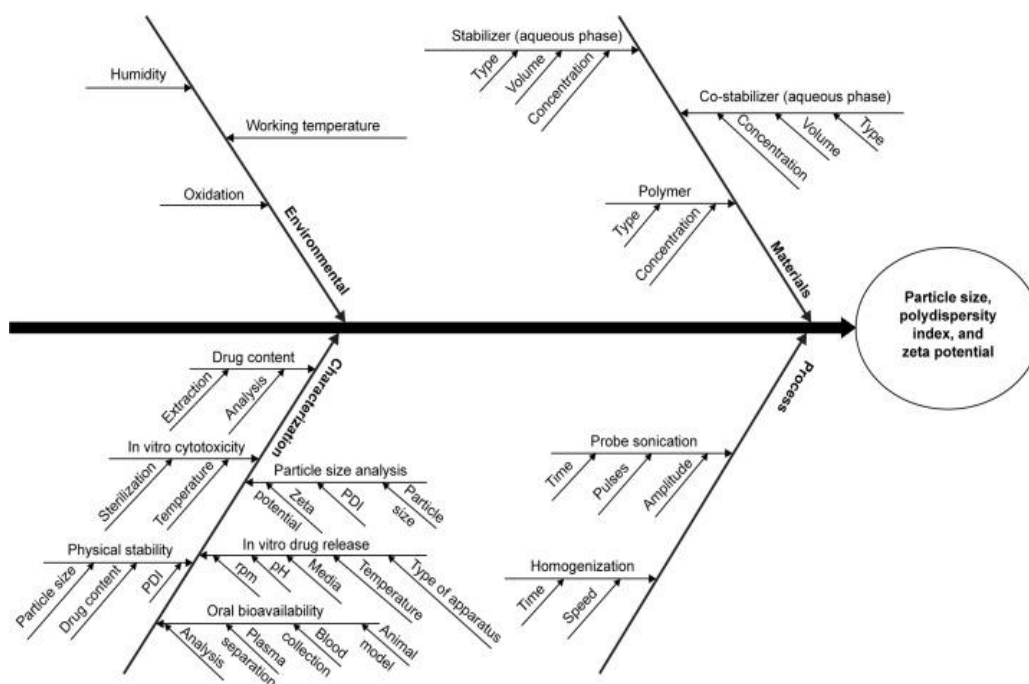


Figura 13: Diagrama de Ishikawa [17]

La nanosuspensión fue preparada tres veces y analizada por HPLC. El porcentaje de pureza de gefitinib fue de $87,74\% \pm 1,19\%$. El ligero descenso en el contenido de fármaco se debe a su foto y termosensibilidad; se piensa que el la luz es más agresiva porque durante el proceso la temperatura se mantuvo bajo control estricto.

El estudio de liberación dio como resultado que hasta las 8 horas, el porcentaje de liberación fue muy bajo ($5,30\% \pm 1,37\%$), debido a que el polímero tardaba en formar la capa estática (polímero hidratado), o que el fármaco se liberaba lentamente de la capa estática producida por el polímero. Se ha comprobado que después de formar el polímero hidratado, la formulación seguía una cinética de orden 1. A las 84 horas, el porcentaje liberado en la nanosuspensión fue de $60,03\% \pm 4,09\%$, en comparación con el $10,39 \pm 3,37$ observado por la dispersión estándar del fármaco. El estudio confirma que el descenso en el tamaño de partícula contribuye a aumentar la solubilidad.

Pero los estudios de citotoxicidad dieron como resultado que la nanosuspensión es mucho menos potente que la solución estándar. La IC50 en la nanosuspensión es aproximadamente 10 veces mayor que en la solución estándar, como se observa en la tabla 2.

Por tanto, se presenta una suspensión que por un lado se libera más rápido que la solución estándar pero tiene menos potencia. Todo se traduciría en menor efecto terapéutico pero también menor porcentaje de efectos adversos. Teniendo en cuenta su alta velocidad de disolución, se podría aplicar en combinación con otros fármacos en los ciclos de quimioterapia. En la figura 14 se muestra una gráfica que relaciona el porcentaje de fármaco liberado con el tiempo, tanto para la solución estándar como para la nanosuspensión.

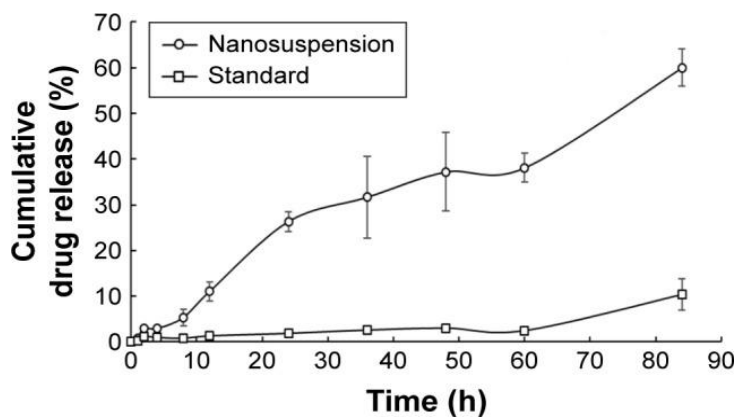


Figura 14: Relación porcentaje de fármaco liberado frente a tiempo [17]

Tabla 2: Resultados del ensayo de citotoxicidad in vitro de la solución estándar y la nanosuspensión de Gefitinib

COMPOSICIÓN	IC50	IC50	IC50
Tiempos después de...	24h	48h	72h
1. Nanosuspensión de gefitinib	1129	1000	950
2. Gefitinib (solución estándar)	192	152	140

6. CONCLUSIÓN

La investigación de la terapia contra el cáncer es un ámbito de la ciencia que está muy abierto. El objetivo de los tratamientos es la curación, y a la vez que ello, mejorar la calidad de vida de los pacientes. Como se ha podido apreciar en este trabajo, se mencionan alternativas eficaces pero a su vez que reduzcan la incidencia de efectos adversos en los pacientes. La mejora de la captación de los fármacos a la que contribuyen los ultrasonidos, el aprovechamiento de las vías endógenas de captación de sustancias, la reducción de toxicidad que generan los liposomas y el mayor control de los procesos de fabricación (QbD) son unos de los muchos aspectos en donde se ha innovado considerablemente.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. *Material docente de Salud Pública*, Lucía Cea Soriano, 5º Curso de Grado en Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, 2018.
2. [https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/Instituto Nacional del Cáncer/23 de diciembre de 2015](https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/Instituto%20Nacional%20del%20Cancer/23%20de%20diciembre%20de%202015) (última consulta 3/3/2019).
3. [https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/tabaco/Instituto Nacional del Cáncer/23 de enero de 2017](https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/tabaco/Instituto%20Nacional%20del%20Cancer/23%20de%20enero%20de%202017) (última consulta 3/3/2019).
4. [https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/alcohol/Instituto Nacional del Cáncer/29 de abril de 2015](https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/alcohol/Instituto%20Nacional%20del%20Cancer/29%20de%20abril%20de%202015) (última consulta 3/3/2019).
5. [https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/dieta/Instituto Nacional del Cáncer/29 de abril de 2015](https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/dieta/Instituto%20Nacional%20del%20Cancer/29%20de%20abril%20de%202015) (última consulta 3/3/2019).
6. [https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/obesidad/Instituto Nacional del Cáncer/29 de abril de 2015](https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/obesidad/Instituto%20Nacional%20del%20Cancer/29%20de%20abril%20de%202015) (última consulta 3/3/2019).
7. [https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/germenes-infecciosos/Instituto Nacional del Cáncer/12 de enero de 2017](https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/germenes-infecciosos/Instituto%20Nacional%20del%20Cancer/12%20de%20enero%20de%202017) (última consulta 3/3/2019).
8. [https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/sustancias/Instituto Nacional del Cáncer/18 de marzo de 2015](https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/sustancias/Instituto%20Nacional%20del%20Cancer/18%20de%20marzo%20de%202015) (última consulta 3/3/2019).
9. [https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/hormonas/Instituto Nacional del Cáncer/29 de abril de 2015](https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/hormonas/Instituto%20Nacional%20del%20Cancer/29%20de%20abril%20de%202015) (última consulta 3/3/2019).
10. <https://www.chemocare.com/es/chemotherapy/what-is-chemotherapy/tipos-de-quimioterapia.aspx> (última consulta 5/3/2019).
11. Academia GoFir, Capítulo 46 *Farmacología y farmacoterapia*, 2018, p.266.
12. INE. Estadísticas de mortalidad por causa, 2017.
13. Loria R, Giliberti C, Bedini A, Palomba R, Caracciolo G, Ceci P, Falvo E, Marconi R, Falcioni R, Bossi G, Strigari L, *Very low intensity ultrasounds as a new strategy to improve selective delivery of nanoparticles-complexes in cancer cells*. J Exp Clin Cancer Res. 2019 Jan 3;38(1):1. doi: 10.1186/s13046-018-1018-6.
14. [bing.com/videos/search?q=abraxane+videos&&view=detail&mid=44A233C514D41D9784EA44A233C514D41D9784EA&rvsmid=EA741EEFC3136E9A358DEA741EEFC3136E9A358D&FORM=VDQVAP](https://www.bing.com/videos/search?q=abraxane+videos&&view=detail&mid=44A233C514D41D9784EA44A233C514D41D9784EA&rvsmid=EA741EEFC3136E9A358DEA741EEFC3136E9A358D&FORM=VDQVAP) (NANOPARTÍCULAS DE ALBÚMINA; ABRAXANE).
15. Rosalva Rángel-Corona, Ramón Soto-Vázquez, Benito Waiss-Steider, María Esther Gil-Alegre, María Teresa Corona-Ortega, *Propuesta biotecnológica para el tratamiento del cáncer de cérvix uterino, empleando liposomas*, An. Real Acad. Farm. Vol.80, N°1 (2014), pág 179-191.
16. *3er Curso teórico-práctico sobre la Calidad por Diseño (QbD), una necesidad actual en el marco de la I+D+i de medicamentos*, Fernando Ferrándiz y M^a Esther Gil-Alegre, Formación Continua 2018, Universidad Complutense de Madrid.
17. Kola Srinivas NS, Verma R, Pai Kulyadi G, Kumar L, *A quality by design approach on polymeric nanocarrier delivery of gefitinib: formulation, in vitro, and in vivo characterization*. Int J Nanomedicine. 2016 Dec 16;12:15-28. doi: 10.2147/IJN.S122729. eCollection 2017.

