



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO:  
SISTEMAS DE LIBERACIÓN MODIFICADA DE  
FÁRMACOS ANTIMICROBIANOS POR VÍA  
PARENTERAL**

Autor: Paula Mateos Sánchez

Tutor: Ana Isabel Torres Suárez

Convocatoria: Junio 2018

## 0. Resumen

Los antimicrobianos son uno de los medicamentos más consumidos a nivel global, pero en el siglo actual presentan un problema debido al gran aumento de resistencias que están apareciendo. A esto debemos añadirle que la investigación en moléculas nuevas está siendo mucho más lenta que en el pasado. Por ello, se están buscando otras alternativas y entre ellas destacan los sistemas de liberación modificada de fármacos.

Las nanopartículas ofrecen una gran cantidad de ventajas frente a los sistemas clásicos como la posibilidad de dirigir el fármaco al lugar de acción o disminuir su degradación sistémica.

En la actualidad, muchas de estas nanopartículas ya están en fase de estudio clínico y algunos pocos se han comercializado como es el caso de Ambisome®, dando muy buenos resultados clínicos.

### 1. Introducción y antecedentes

Los sistemas de liberación modificados son preparaciones en las que la velocidad y el lugar de liberación de la sustancia activa son diferentes del de la forma farmacéutica de liberación convencional administrada por la misma vía. Esta modificación deliberada se consigue por una formulación particular o por un método de fabricación especial. Son sistemas con lo que se consigue algún tipo de modificación de naturaleza temporal, de naturaleza espacial (vectorización) o ambas, en la liberación del principio activo en el organismo. <sup>(1)</sup>

Las aplicaciones en medicina se extienden desde el uso de nanomateriales para dispositivos médicos al uso de nanopartículas como agentes terapéuticos, sistemas de sistemas de liberación de fármacos y sistemas de diagnóstico por imágenes. Las principales ventajas de las formulaciones en nanopartículas frente a los sistemas convencionales es que: prolongan la duración de los efectos del fármaco (con una liberación prolongada o sostenida) y por lo tanto, se aumenta el intervalo de dosificación que ayuda a mejorar el cumplimiento y adherencia de los pacientes al tratamiento; además, mantienen los niveles plasmáticos del principio activo constantes; se reducen los efectos secundarios; se evita la degradación presistémica del fármaco (importante en aquellas moléculas que se absorben muy lentamente y se quedan en el lugar de absorción bastante tiempo, por lo que se quedan expuestas a las enzimas que las degradan); y también permite adaptar el momento de la liberación a las necesidades del paciente o a las características del fármaco. <sup>(2)</sup> La distribución específica de las nanopartículas depende de su composición, de sus características físicas y químicas. Además, pueden transportar diferentes

fármacos en una sola formulación, que es extremadamente útil para combatir las infecciones por VIH o *Helicobacter pylori*, cuya tratamiento se basa en combinaciones de fármacos. <sup>(3)</sup>

Entre las desventajas encontraríamos: el riesgo de liberación brusca de toda la dosis; la dificultad de suspender de forma repentina el tratamiento; desarrollo de tolerancia; impredecible y a menudo pobre correlación "in vitro"-"in vivo"; y, su coste. <sup>(2)</sup>

En los últimos años, se han invertido muchos miles de millones de dólares en nanopartículas dentro del campo de las ciencias de la vida, especialmente en el área de sistemas de administración de fármacos, que en el año 2014 representaban el 76% de las publicaciones de investigación en nanotecnología <sup>(4)</sup>. Actualmente, la oncología es el área principal de las aplicaciones de las nanopartículas, situándose en segundo lugar las enfermedades infecciosas, aunque la investigación también se lleva a cabo en otras áreas terapéuticas como enfermedades del SNC, enfermedades cardiovasculares, patologías oculares y enfermedad de Alzheimer, entre otros. <sup>(5)</sup>

En particular, el uso de las nanopartículas en el tratamiento de las infecciones es interesante por tres motivos principales que se detallan a continuación.

En primer lugar debemos saber que durante décadas, las infecciones se han tratado sin esfuerzo con medicamentos antimicrobianos. Sin embargo, en el siglo XXI, las infecciones pueden volverse letales debido al desarrollo de resistencias antimicrobianas. De acuerdo con la definición de la OMS, se considera una cepa resistente cuando ya no responde al tratamiento estándar y por lo tanto, la infección es muy difícil de tratar y detener su propagación <sup>(6)</sup>. Algunas bacterias responsables de la salud común asociada y las infecciones adquiridas en la comunidad son bacterias multirresistentes, como *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococci sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella no tifoidea*, *Shigella sp.* y *Neisseria gonorrhoeae* <sup>(6)</sup>. Tal resistencia significa que las infecciones deben tratarse con fármacos de segunda línea. Estos tratamientos no siempre están disponibles, y además pueden causar numerosos y severos efectos secundarios. No obstante, el verdadero problema es que las bacterias se están volviendo resistente incluso a tratamientos de segunda línea, como *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) a vancomicina o *K. pneumoniae* a carbapenémicos, e incluso a fármacos de tercera generación. De hecho, en el caso de la tuberculosis y las infecciones por VIH se estima que casi el 20% de los casos son resistentes a los tratamientos disponibles actualmente. <sup>(6)</sup>

En segundo lugar, otro de los problemas principales es que los microorganismos patógenos intracelulares también pueden sobrevivir y reproducirse dentro de las células fagocíticas. En consecuencia, este tipo de células son las primeras en ser "infectadas" y actúan como un reservorio que los fármacos no pueden alcanzar por lo que protegen a los patógenos del tratamiento y así favorecen su replicación intracelular y la propagación de la infección. <sup>(7)</sup>

En tercer lugar, tenemos que tener en cuenta que el desarrollo de nuevas moléculas antibacterianas es más lento que en el pasado. Además, las nuevas moléculas tienen problemas incluso en ensayos de fase I, debido a la degradación o inactivación del fármaco en el sitio de la infección <sup>(8)</sup>. Algunos antimicrobianos también tienen limitaciones fisicoquímicas, como baja biodisponibilidad, vida media corta o absorción variable. Para superar estos problemas, se han establecido altas dosis y administraciones frecuentes como tratamientos convencionales y esto puede causar efectos secundarios graves e incluso toxicidad. Además las administraciones frecuentes complican el cumplimiento, lo que aumenta la probabilidad de que se desarrollen resistencias. <sup>(7)</sup>

Debemos tener en cuenta que las nanopartículas ofrecen una alternativa para superar estos problemas.

## **2. Objetivos**

Esta revisión tiene como objetivo analizar los usos actuales y aplicaciones de la nanotecnología en enfermedades infecciosas, centrándonos en agentes antimicrobianos contra diferentes patógenos (bacterias, virus, hongos y parásitos), cepas y biofilms multirresistentes. Se incluye la descripción de los nanosistemas que se encuentran comercializados y analizando aquellos que se encuentran en investigación o en ensayos clínicos.

## **3. Materiales y métodos**

Para llevar a cabo este trabajo hemos realizado una revisión bibliográfica de distintos artículos y revistas científicas encontradas en distintas bases de datos como PubMed o SciELO Citation Index, a las que se ha accedido a través de la plataforma Web Of Science y de las cuales hemos recopilado información referente al tratamiento y a las nuevas terapias con el uso de las nanomedicinas. La búsqueda se limitó en función del tiempo, seleccionándose aquellos

estudios publicados desde el 2010 hasta la actualidad; en cuanto al idioma, la búsqueda se realizó en inglés. Otro de los criterios fue la selección de revisiones sistemáticas, utilizando palabras claves como “infection”, “antibiotics”, “nanoparticles”, “liposomes”, “microparticles”, etc. Además de lo anterior, también se han utilizado libros sobre Tecnología Farmacéutica e información recogida de páginas web como la Organización Mundial de la Salud (OMS) o la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). Al final de esta revisión se incluyen todas las referencias bibliográficas utilizadas presentadas siguiendo la regla de Vancouver.

## **4. Resultados y discusión**

### **4.1. Nanopartículas orgánicas**

Las nanopartículas orgánicas son el tipo de nanopartículas más estudiado. Entre sus ventajas destacan que generalmente son biodegradables y tienen buena compatibilidad; están compuestas por moléculas biológicamente toleradas que se metabolizan a través del ciclo de Krebs (lo que supone una toxicidad sistémica mínima); y pueden transportar principios activos hidrofílicos e hidrofóbicos. Aunque también presentan ciertas desventajas como una baja eficacia de carga y la pérdida de fármacos durante el almacenamiento; además son inestables y sus características anfifílicas favorecen su absorción por opsonización y degradación rápida. Dentro de las nanopartículas orgánicas nos encontramos los liposomas, las nanopartículas poliméricas, micelas poliméricas y nanopartículas de lípidos sólidos (SLN).<sup>(9)</sup>

#### **4.1.1 Liposomas**

Los liposomas están formados por una bicapa de fosfolípidos y su tamaño varía desde los 20nm (vesículas unilamelares pequeñas) a más de 100nm (vesículas multilamerales grandes).<sup>(10)</sup> Dentro de las nanopartículas los liposomas son los más desarrollados y en el campo de los antimicrobianos destaca Ambisome® (aplicación comercial). También cabe destacar que hay otros liposomas en estudios preclínicos y en ensayos clínicos.<sup>(9)</sup>

La primera nanomedicina puesta en el mercado para administración intravenosa en el tratamiento de infecciones fúngicas severas fue Ambisome®, en el año de 1991. Se trata de una formulación de anfotericina B liposomal unilaminar de fosfolípidos y coleserol de

tamaño 80 nm como podemos ver en la Figura 1. En los estudios llevados a cabo por Gabrill et al en 1981 se demostraba su actividad sobre *Leishmania* que es un parásito intracelular. Posteriormente, en el año 1982 se demostró su eficacia sobre los hongos *Cryptococcus* e *Histoplasma*.<sup>(11)</sup>

A través de esta presentación se pudo reducir entre 50 y 70 veces la toxicidad del antifúngico observada con la formulación tradicional (que consistía en una asociación de desoxicolato y antifúngico). El éxito de esta formulación se debe a que los liposomas tienen la capacidad de alcanzar y concentrarse en las células del sistema monocito-macrofágico.<sup>(12)</sup>

Ambisome® fue aprobada por la FDA y la EMA y se utiliza en el tratamiento contra *Candida* spp, *Aspergillus* spp, *Fusarium* spp, en pacientes neutropénicos y en leishmaniasis visceral. La anfotericina B (figura 2) se intercala en la bicapa lipídica de fosfolípidos en la membrana del liposoma. La liberación de la anfotericina B ocurre por unión del liposoma a la pared celular del hongo y a través de mecanismos de absorción y disgregación de la membrana celular.<sup>(12)</sup>

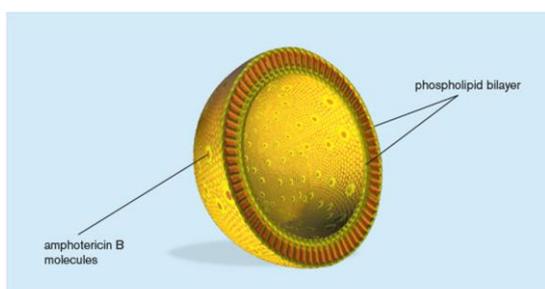


Figura1. Corte transversal de un liposoma con moléculas de anfotericina B.

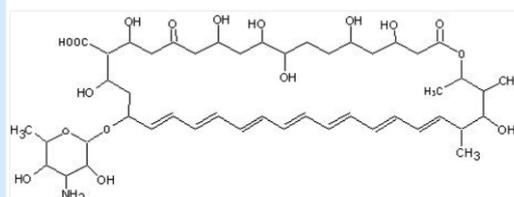


Figura 2. Estructura de la anfotericina B.

El mayor problema de Ambisome® sigue siendo su coste (el tratamiento con Ambisome® es de unos 18.000 euros/mes frente a unos 127 euros/mes de la formulación convencional de anfotericina B, datos del año 2010 en España); sin embargo, se puede justificar debido a la disminución de los gastos derivados de los efectos adversos asociados al uso de la presentación convencional de anfotericina B.<sup>(12)</sup>

Las indicaciones terapéuticas que aparecen en su ficha técnica de la AEMPS son las siguientes:

- Tratamiento de micosis sistémicas graves.

- Tratamiento empírico de las micosis en pacientes con neutropenia grave, como consecuencia de patologías hematológicas malignas o por el uso de fármacos citotóxicos o inmunosupresores.

- Leishmaniasis visceral en inmunocompetentes e inmunocomprometidos que no hayan respondido a antimoniales ni a amfotericina B convencional. <sup>(13)</sup>

También debemos tener en cuenta que pueden ocasionar reacciones anafilactoides asociadas con la perfusión de este medicamento; y aunque Ambisome ha demostrado ser menos tóxico que la anfotericina B convencional en lo que respecta a la nefrotoxicidad podrían aparecer reacciones adversas renales, por lo que se debe prestar atención especial cuando se necesite un tratamiento prolongado. También se deben evaluar los electrolitos séricos regularmente, sobretodo potasio y magnesio, así como la función renal, hepática y hematopoyética. Debido al riesgo de hipopotasemia, se puede requerir suplemento adecuado de potasio durante la administración de este medicamento. <sup>(13)</sup>

Por otro lado, los aminoglicósidos son eficaces frente a las infecciones causadas por micobacterias pero presentan una baja capacidad para atravesar las membranas celulares e importantes efectos secundarios, como nefrotoxicidad y ototoxicidad. Una posible solución a esto sería la encapsulación de estos antibióticos en liposomas puesto que han demostrado un aumento importante de su eficacia terapéutica tanto in vitro como in vivo. Así por ejemplo, en una formulación liposomal de amikacina (denominada Mikasome®, Gilead), el antibiótico fue entre 2 y 6 veces más activo que el principio activo libre. En el estudio llevado a cabo por Xiong et al compararon la eficacia microbiológica y la función ventricular izquierda, evaluada mediante ecocardiografía, en animales a los que se administró oxacilina sola; u oxacilina en combinación con amikacina convencional o MiKasome. In vitro, la oxacilina, combinada con amikacina libre o MiKasome, evitó el recrecimiento bacteriano observado con aminoglucósidos solos a las 24 h de incubación. Mediante el análisis ecocardiográfico, ambos regímenes combinados produjeron un beneficio fisiológico significativo al mantener la función ventricular izquierda normal durante el tratamiento y post-terapia en comparación con la oxacilina sola. <sup>(14)</sup>

Además se ha demostrado que esta formulación aumenta la eficacia de la amikacina frente a infecciones por *Mycobacterium spp*, *Kleibsella spp* y *Pseudomonas spp*. En modelos animales infectados con el complejo *Mycobacterium avium-intracellulare*, amikacina

liposomal permitió reducir en 3 logaritmos (1.000 veces) el número de bacterias viables en hígado, bazo y, en menor medida, en pulmones, comparados con el control no tratado.<sup>(14)</sup>

En cuanto a los antiparásitos, debido a la localización de éstos, el uso de ligandos específicos en la superficie de nanopartículas o la pegilación podría resultar interesante para aumentar la actividad y eficacia de estos sistemas. En cuanto a los ligandos capaces de reconocer de manera específica algún receptor de la superficie de las células, se han propuesto manosa, péptidos (tuftsina) y anticuerpos. Cabe destacar que la utilización de liposomas funcionalizados con tuftsina ha permitido aumentar la eficacia de estibogluconato sódico y anfotericina B. Por otra parte, los inmunoliposomas (resultantes tras la asociación de anticuerpos a la superficie de liposomas) favorecen el acceso de los principios activos a la médula ósea, el tracto gastrointestinal y la piel; órganos que suelen actuar de reservorio para algunos de estos patógenos y causantes de las recaídas.<sup>(15)</sup>

#### 4.1.2 Nanopartículas poliméricas

Éstas están compuestas de una matriz polimérica (formada por polímeros sintéticos o naturales) y pueden prepararse por varios métodos. Es fundamental definir y controlar las condiciones en las que son elaboradas puesto que afectarán a sus características: el tipo de solvente y su proporción afectan al tamaño; y el pH del medio en el que son sintetizadas afecta a la tasa de liberación.<sup>(16)</sup> Entre sus ventajas destacan: protegen al fármaco de la degradación; presentan la posibilidad de incorporar principios activos hidrófilos e hidrofóbicos y la posibilidad de dirigirse a órganos o células específicas.<sup>(16)</sup>

El polímero sintético más utilizado es el poli ácido láctico-co-glicólico (PLGA) puesto que presenta múltiples ventajas: los metabolitos resultantes de su hidrólisis son el ácido láctico y el ácido glicólico, ambos monómeros son metabolizados a través del ciclo de Krebs, por lo tanto son biodegradables y presentan una toxicidad mínima; además el PLGA está aprobado por la FDA de EE.UU. y por la EMA (Agencia Europea del Medicamento) en varios sistemas de administración de fármacos en humanos.<sup>(17)</sup> Comercialmente nos encontramos estos polímeros con diferentes composiciones en función de la proporción del ácido láctico y ácido glicólico que presenten.<sup>(18)</sup> Encontramos varias investigaciones en las que se estudian el uso de nanopartículas con diferentes antimicrobianos en el tratamiento de diversas patologías como:

- i) El objetivo de la investigación de Pillai et al era desarrollar nanopartículas de PLGA para la vectorización de antibióticos como nafcilina (una penicilina resistente a la penicilinas) a los osteoblastos, siendo el objetivo tratar osteomielitis mediada por *Staphylococcus aureus* (a menudo es crónico y altamente resistente a los antibióticos). Después de 24 y 48 h de incubación, observaron que todas las formulaciones de nanopartículas que contenían nafcilina mataron o redujeron significativamente todas las bacterias intracelulares. <sup>(19)</sup>
  
- ii) La gentamicina es un aminoglucósido que presenta poca penetración celular. Tras ser encapsulada en nanopartículas de PLGA, alcanzaron el bazo y el hígado principalmente que son los órganos diana para la brucelosis. Tras una sola administración intravenosa se alcanzó un AUC mayor para estos dos órganos y tiempos de retención medios más altos. Por lo tanto, tanto los parámetros farmacocinéticos como los farmacodinámicos mostraron la idoneidad de estas nanopartículas para reducir la infección en ratones infectados experimentalmente con *B. melitensis*. <sup>(20)</sup>
  
- iii) Toti et al demostraron que la encapsulación de rifampicina y azitromicina en nanopartículas de PLGA puede ser una solución a los problemas que presentan las infecciones por *Chlamydia trachomatis* y *Chlamydia pneumoniae* ya que son patógenos bacterianos intracelulares que causan o están fuertemente asociados con diversas enfermedades crónicas (muchas de las cuales son refractarias a la terapia con antibióticos). Con la administración normal de antibióticos se ha observado una baja eficacia terapéutica pues se consiguen bajas concentraciones de fármaco intracelular. En esta investigación estudiaron la localización de nanopartículas de PLGA en células infectadas por *Chlamydia* observando que las nanopartículas de PLGA se concentran eficientemente tanto en células infectadas agudamente como persistentemente. Además, la encapsulación de antibióticos con rifampicina y azitromicina en nanopartículas de PLGA mejoró la efectividad de los antibióticos para reducir la carga microbiana. Cabe destacar que la combinación de rifampicina y azitromicina fue más efectiva que los medicamentos individuales. <sup>(21)</sup>

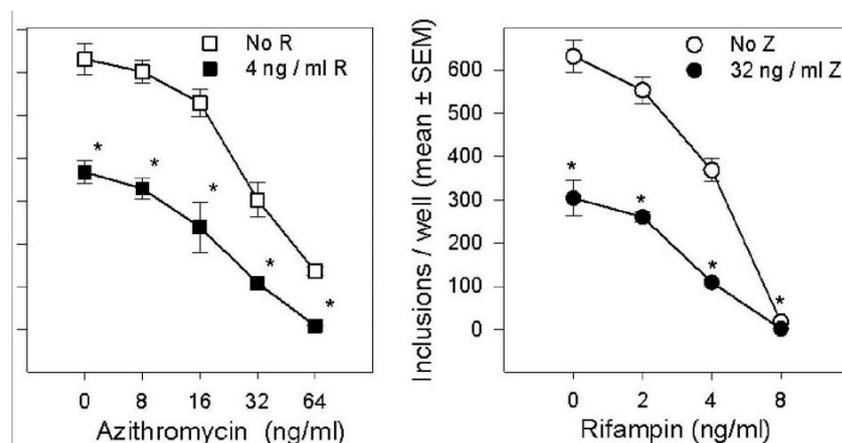


Figura 3. Los principios activos combinados (azitromicina y rifampicina) son más efectivos en la eliminación de la clamidia que un fármaco solo. Los experimentos de respuesta a la dosis en presencia de una dosis estable del segundo antibiótico demuestran la eficacia de la terapia farmacológica combinada in vitro. (A), azitromicina en concentraciones variables, rifampicina fija; (B) rifampina en concentraciones variables y azitromicina fija. <sup>(21)</sup>

- iv) Una causa importante de tromboflebitis, durante la administración parenteral de aciclovir (ACV) es el alto pH de su solución reconstituida (pH 11). Su vida media plasmática es de 2.5 h, lo que requiere una administración repetida que puede dar como resultado un exceso de solubilidad del fármaco que conduce a un posible daño renal e insuficiencia renal aguda. El estudio de Kamel et al informa la eficacia de las nanopartículas (NP) de ACV puesto que aumentaron 29 veces el tiempo medio de residencia del medicamento y produjeron un marcado descenso en la tromboflebitis cuando se inyectó en la vena de la oreja de conejo. El polímero utilizado para la formulación de las nanopartículas fue el poliláctico-co-glicólico (PLGA). <sup>(22)</sup>
- v) El estudio llevado a cabo por Amaral et al desarrolló y evaluó un sistema de administración sostenida de amfotericina B desoxicolato (D-AMB) a base de mezclas poliméricas de ácido poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) y ácido dimercaptosuccínico (DMSA) (Nano-D-AMB) para tratar la micosis. Y demostraron que la nanopartícula de PLGA-DMSA revestida con D-AMB mostró eficacia antifúngica, menos efectos indeseables y un intervalo de dosificación prolongado. Nano-D-AMB comprende una formulación AMB capaz de disminuir el número de administraciones de medicamentos. Aunque también sugieren que se necesitarían estudios adicionales para aclarar si Nano-D-AMB sería útil para tratar infecciones fúngicas sistémicas como paracoccidioidomicosis, candidiasis, aspergilosis y criptococosis. <sup>(23)</sup>

- vi) Las infecciones causadas por bacterias formadoras de biopelículas son una gran amenaza para los pacientes hospitalizados y la principal causa de enfermedad pulmonar obstructiva crónica y fibrosis quística. Existe una necesidad urgente de nuevos enfoques terapéuticos, ya que la administración actual de antibióticos no elimina las bacterias protegidas en biopelículas. <sup>(24)</sup>

Baelo et al demostraron que nanopartículas de PLGA cargadas con ciprofloxacino, que se funcionalizaron con DNasa I, pueden combatir y eliminar biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa* degradando el ADN extracelular que estabiliza la matriz de biofilm y además liberaban ciprofloxacino de forma controlada. Estas nanopartículas se compararon con ciprofloxacino libre soluble y ciprofloxacino encapsulado en nanopartículas recubiertas con polilisina sin tratar. Las nanopartículas activadas con DNasa I no solo fueron capaces de prevenir la formación de biopelículas de bacterias planctónicas, sino que también redujeron con éxito la masa, el tamaño y la densidad de células vivas del biofilm, como se observó en un entorno dinámico en un ensayo de biofilm de células de flujo. Además, la administración repetida durante tres días de nanopartículas revestidas con DNasa I que encapsulan ciprofloxacino fue capaz de reducir en un 95% y luego erradicar más del 99.8% de la biopelícula establecida, superando todas las demás formulaciones de nanopartículas. <sup>(24)</sup>

Otros polímeros sintéticos utilizados son policaprolactona (PCL); poliacrilatos (PCA); u otros copolímeros de polilactida (PLA), usados en menor medida que el PLGA debido a la menor velocidad de degradación. <sup>(25)</sup>

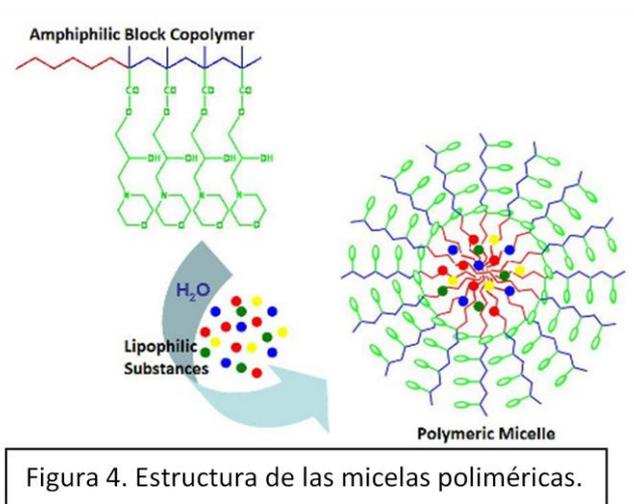
En la terapia antimicrobiana se han utilizado principalmente para mejorar la eficacia y parámetros farmacocinéticos como la vida media o la biodisponibilidad de los fármacos y de esta manera, se mejora la calidad de vida del paciente con mejoras en las pautas posológicas. <sup>(16)</sup>

Entre los polímeros naturales destaca el uso de quitosano, también llamado chitosán, que es un polisacárido lineal compuesto de cadenas distribuidas aleatoriamente de  $\beta$ - D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina. Las infecciones producidas por bacterias intrafagosómicas son un gran obstáculo en el tratamiento de las enfermedades infecciosas. El objetivo de Gnanadhas et al fue desarrollar un sistema de administración de fármacos

eficaz para combatir la infección causada por *Salmonella*, un conocido patógeno intracelular e intrafagosomal. Sintetizaron nanocápsulas de quitosano-sulfato de dextrano (CD) y las cargaron con ciprofloxacino o ceftriaxona. Los experimentos *in vitro* e *in vivo* mostraron que este sistema de administración podría usarse eficazmente para eliminar la infección por *Salmonella*. Las nanocápsulas de CD se emplearon con éxito para dirigir de forma eficaz y destruir el patógeno intracelular a una dosificación significativamente más baja que la del antibiótico libre. El aumento del tiempo de retención de la ciprofloxacino en la sangre y los órganos cuando se administró mediante nanocápsulas de CD en comparación con las formas de administración convencionales puede ser la razón que subyace a la necesidad de una dosis reducida y una frecuencia de administración de antibióticos. Por lo tanto llegaron a la conclusión de que las nanocápsulas de CD se pueden usar como un sistema eficaz de administración de fármacos para tratar patógenos intrafagosómicos, especialmente la infección por *Salmonella*. Este sistema de administración podría usarse eficazmente para otros patógenos vacuolares, incluidas *Mycobacteria*, *Brucella* y *Legionella*.<sup>(26)</sup>

#### 4.1.3. Micelas poliméricas

Las micelas poliméricas son nanopartículas núcleo-cubierta típicamente formadas a través del autoensamblaje de copolímeros de bloque anfifílicos como podemos observar en la figura 4. Son una de las nanoestructuras más estudiadas para aplicaciones antimicrobianas.<sup>(27)</sup>



Por debajo de la concentración micelar crítica y de la temperatura micelar crítica actúan como material inerte pero por encima de ellos, las cadenas se vuelven hidrofóbicas y se produce la agregación y precipitación. Los fragmentos hidrofóbicos forman el núcleo interno esférico (debe estar en estado sólido para incorporar principios activos sino la liberación del fármaco será inmediata) y los hidrofílicos la capa externa.<sup>(27)</sup>

Las micelas poliméricas presentan una baja toxicidad porque se descomponen en cadenas de polímeros que se excretan fácilmente; cabe destacar también que son sistemas más simples que los liposomas y las nanopartículas poliméricas, más estables y biocompatibles; y de menor coste. Su uso principal es para mejorar la solubilidad acuosa, la permeabilidad intestinal y ayudar a una buena localización de los fármacos antibacterianos.<sup>(28)</sup>

#### 4.1.4. Nanopartículas lipídicas sólidas (SLN)

Las nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) se desarrollaron a principios de 1990 como una alternativa a sistemas como los liposomas y las nanopartículas poliméricas. Estas nanopartículas presentan algunas ventajas en comparación con los liposomas como por ejemplo la protección del principio activo incorporado contra la degradación química y una mayor flexibilidad en la liberación de los fármacos. Sin embargo, entre las ventajas actuales de los liposomas destaca que sus componentes se reconocen como excipientes bien tolerados por el organismo y que pueden producirse a gran escala, lo que es un requisito para su producción industrial. Las SLN se han generado simplemente intercambiando el lípido líquido de las emulsiones por un lípido sólido, lo que significa que las SLN son sólidas a temperatura ambiente así como a la temperatura del cuerpo.<sup>(29)</sup>

Las nanopartículas sólidas (SNLs) son una forma alternativa para administrar fármacos lipofílicos. Estas nanopartículas son sistemas particulados coloidales que presentan una proporción de 70-95% de agua y unos diámetros que oscilan entre 50 a 1000 nm compuestos de lípidos en fase sólida a temperatura ambiente y surfactantes para la emulsificación. Se suelen elaborar a partir de lípidos fisiológicos que tienden a gelificar y a expulsar el fármaco durante el almacenamiento. Su principal desventaja es que tienen capacidad de carga limitada pero son biodegradables y presentan buena tolerancia.<sup>(30)</sup>

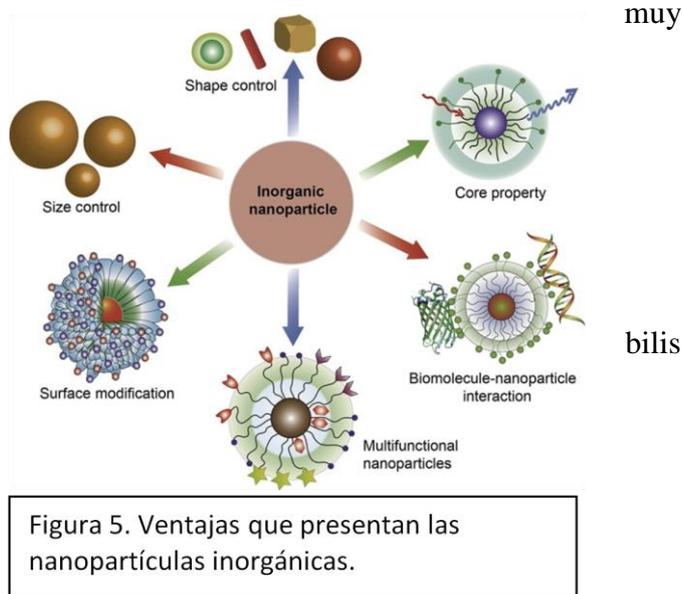
Los principales estudios sobre estas nanopartículas en tratamiento de infecciones se centran en azoles (antifúngicos) por vía tópica pero no encontramos ningún sistema en estudio para vía parenteral.<sup>(31)</sup>

Cabe destacar que la adición de lípidos líquidos en los que el fármaco es más soluble genera nuevos sistemas nanoparticulares conocidos como transportadores lipídicos nanoestructurados (NLC).<sup>(29)</sup>

## 4.2. Nanopartículas inorgánicas

Las nanopartículas inorgánicas están elaboradas con diferentes óxidos inorgánicos y tienen diferentes tamaños, formas, solubilidad y estabilidad a largo plazo. Se sintetizan por reducción química de la sal metálica con un agente reductor y según la temperatura, pH, tiempo de reducción o concentración del agente reductor sus características pueden modificarse. La elección del agente reductor es fundamental porque además de influir en muchos aspectos fisicoquímicos (capacidad de carga, agregación, propiedades antimicrobianas...), actúa como un enlace entre la superficie de la nanopartícula y el principio activo o la biomolécula de interés. (32)

En comparación con las nanopartículas orgánicas, éstas pueden ser más pequeñas (1-100nm) y su eficacia de carga mucho más alta. Otra ventaja que presentan es que se acumulan en hígado, bazo y ganglios linfáticos por lo que son muy útiles para tratar enfermedades cuyo objetivo sea el sistema reticuloendotelial (figura 5). Como inconvenientes presentan problemas de agregación, metabolización y acumulación (la excreción es generalmente a través de la bilis por lo que pueden acumularse durante largos periodos de tiempo en el cuerpo); además puede producir reacciones tóxicas; pueden interaccionar con



proteínas produciendo daño en la piel, aumento del peso del bazo, alteraciones en glóbulos rojos,...; pueden también liberar iones tóxicos y al estimular el retículo endotelial y citoquinas inflamatorias pueden provocar inmunotoxicidad, genotoxicidad o citotoxicidad. Algunos problemas de toxicidad pueden reducirse con transformaciones químicas o mediante concentraciones más bajas de estas nanopartículas. (32)

### 4.2.1. Nanopartículas de oro (AUNP).

Entre sus ventajas destacan que presentan un gran área de superficie que permite acoplar un gran número de fármacos; y, la facilidad para cuantificar concentraciones muy bajas de oro y el uso de fármacos mediante técnicas analíticas. (32)

#### 4.2.2. Nanopartículas de plata (AgNP)

Estas nanopartículas presentan propiedades antimicrobianas por lo que su principal aplicación terapéutica es en este campo, usándose como portadores. También son útiles para el diseño de dispositivos médicos cuyo objetivo sea prevenir infecciones (implantes dentales, prótesis óseas).<sup>(33)</sup>

En la investigación de Naqvi et al se realizó una micosíntesis extracelular de nanopartículas de plata (AgNP) mediante la reacción de la sal precursora del nitrato de plata (AgNO<sub>3</sub>) con el filtrado de cultivo de *Aspergillus flavus* e investigaron las actividades antibacterianas combinadas e individuales de cinco antibióticos convencionales y AgNP contra ocho especies bacterianas resistentes a múltiples fármacos diferentes utilizando el método de difusión de disco Kirby-Bauer. Demostraron un efecto sinérgico de antibióticos y nanopartículas de plata, situándose en primera posición de actividad antibacteriana (zona de inhibición en mm) el conjugado ciprofloxacino + AgNPs. Por lo tanto demostraron claramente que las nanopartículas pueden usarse de manera efectiva en combinación con antibióticos para mejorar su eficacia contra varios patógenos microbianos.<sup>(34)</sup>

En el campo de las infecciones fúngicas las NP-Ag pueden: unirse a la membrana del hongo modificando su permeabilidad, de esta manera alterarán su viabilidad celular; o bien, pueden penetrar y modificar la capacidad respiratoria; o también detener su división celular causando así la muerte celular. También se ha demostrado que las NP-Ag pueden liberar iones de plata que interactúan con los grupos tiol de muchas enzimas y de esta manera se produzca su inactivación o bien generar radicales libres que son extremadamente reactivos y presentan gran actividad citotóxica.<sup>(35)</sup>

En el estudio que llevaron a cabo Panáček et al demostraron que las NP-Ag inhiben eficientemente el crecimiento de *Candida albicans* a concentraciones por debajo del límite citotóxico<sup>(36)</sup>. En el estudio de Nasrollahi et al compararon la actividad antifúngica de las NP-Ag con la anfotericina B y el fluconazol ante *C. albicans* y *S. cerevisiae* y demostraron que estas nanopartículas presentan una actividad antifúngica potente con valores similares en las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI).<sup>(37)</sup>

Aunque su actividad antimicrobiana es considerable, estas NP-Ag también presentan numerosos efectos adversos sobre el ser humano y otros seres vivos, incluso también sobre el medio ambiente puesto que tienen la capacidad de liberar iones de plata en medio acuoso. Tenemos que tener en cuenta que la mayoría de las células contienen azufre y fósforo que

son bases débiles. El ácido desoxirribonucleico o ADN contiene estos átomos por lo que estas nanopartículas pueden reaccionar con ellos, ocasionar su destrucción y, por lo tanto, llevar a la muerte celular. Entre los efectos nocivos que se han dado en el ser humano destacan: la argiria producida por la acumulación de partículas de plata relativamente grandes debajo de la piel y posteriormente reaccionan con la luz solar, convirtiendo la piel gris o azul; por otro lado pueden ocasionar argirosis que es la decoloración gris-azulada en las estructuras oculares como consecuencia de la acumulación de plata en la córnea; también pueden producir efectos hepatotóxicos por alteración del estrés oxidativo mitocondrial alterando la permeabilidad de iones potasio y sodio; y otros efectos adversos como necrosis, fibrosis e hiperplasia de ductos biliares. Además de todos estos efectos sobre los seres humanos, las NP-Ag producen un considerable deterioro ambiental puesto que no tienen la capacidad de discriminar entre los diferentes microorganismos presentes en el medio, destruyendo aquellos que son beneficiosos para la ecología. Otra acción de las nanopartículas de plata recae sobre las bacterias desnitrificantes puesto que alteran el proceso de desnitrificación que supone la conversión de nitratos en gas nitrógeno, siendo esto esencial para las plantas por lo que la pérdida de desnitrificación a través de la reducción de la productividad de las plantas puede llevar a la eutroficación de ríos, lagos y destruir ecosistemas marinos. <sup>(38)</sup>

#### 4.2.3. Otras nanopartículas inorgánicas

Otras nanopartículas elaboradas con platino, aluminio, zinc, titanio, paladio, hierro o cobre también han sido desarrolladas. Éstas han sido utilizadas como transportadores puesto que pueden mejorar el efecto terapéutico debido a sus propiedades antimicrobianas. <sup>(32)</sup>

Por un lado están las nanopartículas elaboradas con compuestos inorgánicos porosos como la sílice, el aluminio y el titanio. Entre éstos destaca la sílice debido a su biocompatibilidad y la facilidad de síntesis y modificación. La principal ventaja que presentan estas nanopartículas es que pueden llevar grandes cantidades de fármaco. <sup>(32)</sup>

También encontramos las nanopartículas de cobre que están atrayendo actualmente la atención ya que tienen propiedades antibacterianas y antifúngicas y presentan un bajo precio. Cabe destacar que su acumulación puede resultar tóxica, pero a diferencia de las nanopartículas de plata u oro los seres humanos poseemos transportadores de cobre en nuestro cuerpo que ayudan a controlar la homeostasis de este metal; aunque pueden dar

problemas de aglomeración y oxidación rápida y por lo tanto, requieren del uso de un estabilizador.<sup>(32)</sup>

Por otro lado encontramos las nanopartículas de óxido de hierro (SPION) que se han desarrollado principalmente para detectar infecciones microbianas de forma rápida y sensible y para atacar y liberar fármacos mediante estimulación magnética externa.<sup>(32)</sup>

## 5. Conclusiones

La Organización Mundial de la Salud (OMS) alerta de que la resistencia bacteriana a los antibióticos está alcanzando ya niveles elevados en todo el mundo, resistencia a los medicamentos de primera línea, pero también a los de segunda o tercera. A esto se agrega la importante carga de enfermedad que representan en todo el mundo las infecciones nosocomiales resistentes; los nuevos problemas que plantea la resistencia a los fármacos antivirales, y los problemas crecientes de resistencia a los medicamentos entre las enfermedades parasitarias. La Asamblea Mundial de la Salud aprobó en mayo de 2015 un plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos, incluida la resistencia a los antibióticos.

Por ello, la investigación en alternativas para el tratamiento de estas enfermedades infecciosas es clave y la nanotecnología abre un gran campo de posibilidades en esta área. Las nanopartículas ofrecen tratamientos prometedores puesto que pueden mejorar el efecto de los fármacos, prolongar el intervalo de dosificación o reducir los efectos secundarios, entre otras ventajas. Ya en el mercado encontramos algunas nanopartículas como el transportador liposomal Ambisome® (anfotericina B).

Actualmente existen una gran cantidad de líneas de investigación en torno a la nanotecnología por lo que seguramente en el futuro habrá una mayor cantidad de nanopartículas comercializadas; principalmente en el campo de la oncología puesto que es el área en el que se está invirtiendo más en las investigaciones de nanopartículas pero también en el campo de enfermedades infecciosas (se encuentra en segundo lugar).

## 6. Bibliografía

1. Boissenot T., Bordat A., Fattal E., Tsapis N. Ultrasound-triggered drug delivery for cancer treatment using drug delivery systems: From theoretical considerations to practical applications. *Journal of Controlled Release*. 2016; 241:144-63.

2. Oropesa R., Jáuregui U. Las nanopartículas como portadores de fármacos: características y perspectivas. CENIC. 2012; 43: 3.
3. Freeling J.P., Koehn J., Shu C., Sun J., Ho R.J. Long-acting three-drug combination anti-HIV nanoparticles enhance drug exposure in primate plasma and cells within lymph nodes and blood. AIDS 28. 2014; 2625–2627.
4. James K., Highsmith J., Evers P. Nanotechnology market — nanotechnology markets in healthcare & medicine, Drug Dev. Deliv. 2014; 11: 43–45.
5. Bamrungsap S., Zhao Z., Chen T., Wang L., Li C., Fu t., Tan w. Nanotechnology in therapeutics: a focus on nanoparticles as a drug delivery system. Nanomedicine London. 2012; 2: 1253–1271
6. World Health Organization (WHO), Anti-Microbial Resistance, Global Report on Surveillance. 2014 Summary, WHO Press, 2014.
7. Briones E., Colino C.I. , Lanao J.M. Delivery systems to increase the selectivity of antibiotics in phagocytic cells. J. Control. Release. 2008; 125: 210–227.
8. Mody V.V., Siwale R., Singh A., Mody H.R. Introduction to metallic nanoparticles. J. Pharm. Bioallied Sci. 2010; 2: 282–289.
9. S. Xie, Y. Tao, Y. Pan, W. Qu, G. Cheng, L. Huang, D. Chen, X. Wang, Z. Liu, Z. Yuan, Biodegradable nanoparticles for intracellular delivery of antimicrobial agents, J. Control. Release 187 (2014) 101–117.
10. Vela-Ramirez J.E., Goodman J.T., Boggiatto P.M., Roychoudhury R., Pohl N.L., Hostetter J.M., Wannemuehler M.J., Narasimhan B. Safety and biocompatibility of carbohydrate-functionalized polyanhydride nanoparticles. AAPS J. 2015; 17: 256–267.
11. Gabril J. R., Craven, P. C., Taylor R. L. Treatment of murine Cryptococcus with liposome-associated amphotericin B. Journal of Infection Disease. 1982; 145: 748.
12. Azanza J.R., Sádada B., Reis J. Liposomal formulations of amphotericin B: differences according to the scientific evidence. Rev Esp Quimioter. 2015; 28: 275-81.
13. Ficha técnica Ambisome®. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. [https://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/61117/FT\\_61117.pdf](https://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/61117/FT_61117.pdf)
14. Xiong Y.Q., Kupferwasser L.I., Zack P.M., Bayer A.S. Comparative efficacies of liposomal amikacin (MiKasome) plus oxacillin versus conventional amikacin plus oxacillin in experimental endocarditis induced by Staphylococcus aureus: microbiological and echocardiographic analyses. Antimicrob Agents Chemother. 1999; 43(7): 1737-42.
15. Lam S.K., Wong E., Boyer C., Qiao G.C. Antimicrobial polymeric nanoparticles. Progress in Polymer Science. 2018; 76: 40–64.

16. Goncalves I.C., Henriques P.C., Seabra C., Martins M. The potential utility of chitosan micro/nanoparticles in the treatment of gastric infection. *Expert Rev. AntiInfect. Ther.* 2014; 12: 981–992.
17. Jain R.A. The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) devices. *Biomaterials.* 2000; 21: 2475–2490.
18. Danhier F., Ansorena E., Silva J.M, Coco R., Le Breton A., Préat V. PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications. *Journal of Controlled Release.* 2012; 161: 505–522.
19. Pillai R.R, Somayaji S.N., Rabinovich M., Hudson C., Gonsalves K. Nafcillin loaded PLGA nanoparticles for treatment of osteomyelitis. *Biomed. Mater.* 2008; 3: 034114.
20. Lecaroz M.C., Blanco-Prieto M.J., Campanero M.A., Salman H., Gamazo C. Poly(D,L-lactide-coglycolide) particles containing gentamicin: pharmacokinetics and pharmacodynamics in *Brucella melitensis*-infected mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007; 51: 1185–1190.
21. Toti U.S., Guru B.R., Hali M., McPharlin C.M., Wykes S.M., Panyam J., Whittum-Hudson J.A. Targeted delivery of antibiotics to intracellular chlamydial infections using PLGA nanoparticles. *Biomaterials.* 2011; 32: 6606–6613.
22. Kamel A.O., Awad G.A., Geneidi A.S., Mortada N.D. Preparation of intravenous stealthy acyclovir nanoparticles with increased mean residence time. *AAPS PharmSciTech.* 2009; 10: 1427–1436.
23. Amaral A.C., Bocca A.L., Ribeiro A.M., Nunes J., Peixoto D.L., Simioni A.R., Primo F.L., Lacava Z., Bentes R., Titze-de-Almeida R., Tedesco A.C., Morais P., Felipe M. Amphotericin B in poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) and dimercaptosuccinic acid (DMSA) nanoparticles against paracoccidioidomycosis. *J. Antimicrob. Chemother.* 2009; 63: 526–533.
24. Baelo A., Levato R., Julian E., Crespo A., Astola J., Gavalda J., Engel E., Mateos-Timoneda M.A., Torrents E. Disassembling bacterial extracellular matrix with DNase-coated nanoparticles to enhance antibiotic delivery in biofilm infections. *J. Control. Release.* 2005; 209: 150–158.
25. Mishra D., Jain N., Rajoriya V., Jain A.K. Glycyrrhizin conjugated chitosan nanoparticles for hepatocyte-targeted delivery of lamivudine. *J. Pharm. Pharmacol.* 2014; 66: 1082–1093.
26. Gnanadhas D.P., Ben Thomas M., Elango M., Raichur A.M., Chakravorty D. Chitosan-dextran sulphate nanocapsule drug delivery system as an effective therapeutic against intraphagosomal pathogen *Salmonella*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2013; 68: 2576–2586.

27. Bawa P., Pillay V., Choonara Y.E., du Toit L.C. Stimuli-responsive polymers and their applications in drug delivery. *Biomed. Mater.* 2009; 4: 022001.
28. Yokoyama M. Polymeric micelles as drug carriers: their lights and shadows. *J. Drug Target.* 2014; 22: 576–583
29. Garzón L., Hernández A., Vázquez M. L., Villafuerte L., García B. Preparación de nanopartículas sólidas lipídicas (SLN) y de acarreadores lipídicos nanoestructurados (NLC). *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas.* 2008; 39: 50.
30. Kumar M., Kakkar V., Mishra A.K., Chuttani K., Kaur I.P. Intranasal delivery of streptomycin sulfate (STRS) loaded solid lipid nanoparticles to brain and blood. *Int. J. Pharm.* 2014; 461: 223–233.
31. Paolicelli P., Corrente F., Serricchio D., Cerreto F., Cesa S., Tita B., Vitali F., D'Auria F.D., Simonetti G., Casadei MA. The system SLN-Dextran hydrogel: An application for the topical delivery of ketoconazole. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.* 2011; 3: 410.
32. Zazo H., Colino C.I., Lanao J.M. Current applications of nanoparticles in infectious diseases. *Journal of Controlled Release.* 2016; 242: 86–102.
33. Wei L., Lu J., Xu H., Patel A., Chen Z.S., Chen G. Silver nanoparticles: synthesis, properties, and therapeutic applications. *Drug Discov.* 2015; 20: 595–601.
34. Naqvi S.Z., Kiran U., Ali M., Jamal A., Hameed A., Ahmed S., Ali N. Combined efficacy of biologically synthesized silver nanoparticles and different antibiotics against multidrug-resistant bacteria. *Int. J. Nanomedicine.* 2013; 8: 3187–3195.
35. Prabhu, S., Poulouse, K.E. Silver nanoparticles: Mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters.* 2012; 2: 32.
36. Panáček, A., Kolár, M., Vecerová, R., Pucek, R., Soukupová, J., Krystof, V., Hamal, P., Zboril, R., Kvítek, L. Antifungal activity of silver nanoparticles against *Candida* spp. *Iomaterials.* 2009; 30: 6333.
37. Nasrollahi, A., Pourshamsian, Kh., Manosourkiaee, P. Antifungal activity of silver nanoparticles of silver nanoparticles on some fungi. *International Journal of Nano Dimension.* 2011; 1: 233.
38. Sánchez-Huerta, V., De-Witt, C.G., Hernández-Quintela, E., Rodríguez, A.A., Naranjo-Tackman, R. Argirosis corneal. *Revista Mexicana de Oftalmología.* 2006; 80: 150.