



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
NUEVOS VECTORES DE MEDICAMENTOS PARA
APLICACIÓN VÍA ENDOVENOSA.
ESTRATEGIAS EN LA FORMULACIÓN DE
DOXORUBICINA.**

Autor: Sara Poza Atienza

Tutor: Begoña Elorza Barroeta

Convocatoria: Julio 2019

Índice

- 1. Resumen.**
- 2. Introducción y antecedentes:**
 - 2.1. Doxorubicina.**
 - 2.1.1. Historia.**
 - 2.1.2. Propiedades: estructura química y mecanismo de acción.**
 - 2.1.3. Toxicidad.**
 - 2.2. Nanotecnología.**
- 3. Objetivos.**
- 4. Metodología.**
- 5. Resultados y discusión:**
 - 5.1. Liposomas.**
 - 5.1.1. Características generales, métodos de obtención y carga de fármacos.**
 - 5.1.2. DLP de DOX: Doxil® (USA) /Caelyx® (US).**
 - 5.1.3. DLNP de DOX: Myocet®.**
 - 5.1.4. Lipodox®.**
 - 5.1.5. Thermodox®.**
 - 5.2. Nanopartículas.**
 - 5.2.1. Livatag®.**
 - 5.3. Conjugados poliméricos.**
 - 5.3.1. FCE28068/PK1.**
 - 5.3.2. FCE28069/PK2.**
 - 5.4. Micelas poliméricas.**
 - 5.4.1. SP1049C.**
 - 5.4.2. NK911.**
- 6. Conclusiones.**
- 7. Bibliografía.**

1. Resumen

La doxorubicina (DOX) se considera uno de los agentes quimioterapéuticos más eficaces, utilizado como tratamiento de primera línea en numerosos tipos de cáncer.

Sin embargo, presenta graves efectos adversos como cardiotoxicidad letal y mielosupresión, ambos dependientes de la dosis administrada y por tanto limitantes de la misma.

Con el fin de reducir estos efectos adversos y conservar la misma eficacia que las formulaciones convencionales se han desarrollado nuevas formulaciones basadas en nanotecnología, algunas de ellas aprobadas por agencias reguladoras como la European Medicine Agency (EMA) o la Food and Drug Administration (FDA).

Esta revisión bibliográfica se centra en la descripción y los beneficios clínicos de diferentes nanotransportadores cargados con DOX para el tratamiento de distintos tipos de cáncer.

No sólo abarca aquellos nanotransportadores que se encuentran disponibles comercialmente en la actualidad, como los liposomas, sino también los que se encuentran actualmente en fases clínicas, como los conjugados poliméricos o micelas poliméricas. Destacando, de estos últimos, los altos niveles de direccionamiento pasivo al tumor por sus propiedades farmacocinéticas y direccionamiento activo por su posibilidad de unión a un ligando específico para el receptor asociado a la célula tumoral.

2. Introducción y antecedentes

2.1. Doxorubicina (DOX)

2.1.1. Historia

El término cáncer comprende un numeroso grupo de enfermedades que se caracterizan por presentar procesos de crecimiento y diseminación incontrolados de las células. Es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. Según los últimos datos disponibles del proyecto GLOBOCAN, el número de casos mundiales habría aumentado desde los 14 millones estimados en 2012 a los 18,1 millones en 2018, valores que seguirán aumentando hasta alcanzar casi unos 30 millones de casos en el año 2040. (1)

Para el tratamiento del cáncer se utilizan diferentes fármacos citotóxicos activos. Las antraciclinas, como doxorubicina, daunorrubicina, idarrubicina, epirubicina, entre otros, desde el punto de vista clínico son uno de los agentes quimioterapéuticos más potentes y utilizados.

La doxorubicina (DOX) se aisló por primera vez en 1969 principalmente en el micelio de la especie *Streptomyces peucetius* var. *Caesius* por tratamiento mutagénico con N-nitroso-N-metiluretano de *Streptomyces peucetius*, microorganismo productor de danorubicina, presentando mayor y más extensa actividad biológica que esta última molécula. (2)

2.1.2. Propiedades: estructura química y mecanismo de acción.

La DOX es una molécula anfifílica que comprende una genina insoluble en agua (extremo hidrófobo) y un grupo amino-azúcar básico, reductor y soluble en agua (extremo hidrofílico).

Es un policétido, metabolito secundario del hongo, cuya estructura química se caracteriza por poseer un núcleo plano de antraquinona unida a un azúcar por enlace glicosídico.

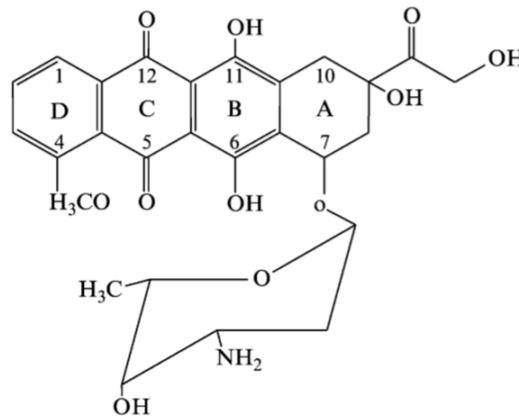


Figura 1. Estructura química de doxorubicina.

Cabe destacar que presenta tres funciones prototrópicas significativas con pKas asociados: el grupo amino del azúcar (pK 8,15), el grupo fenólico en C11 (pK 10,16) y el grupo fenólico en C6 (pK 13,2).

Destaca también la capacidad intrínseca de realizar interacciones entre los anillos planos de moléculas individuales, dando lugar así a un mecanismo de autoasociación.

Es una molécula soluble en agua y alcoholes acuosos, moderadamente soluble en metanol anhidro e insoluble en disolventes orgánicos apolares. (3)

Respecto al mecanismo de acción no está completamente esclarecido, la DOX actúa sobre los ácidos nucleicos de las células en división mediante dos mecanismos principales propuestos:

- Intercalación entre los pares de bases de las cadenas de ADN. Inhibiendo así la síntesis de ADN y ARN en células de crecimiento rápido mediante el bloqueo de los procesos de replicación y transcripción, e interrupción de la reparación de ADN mediada por topoisomerasa II.

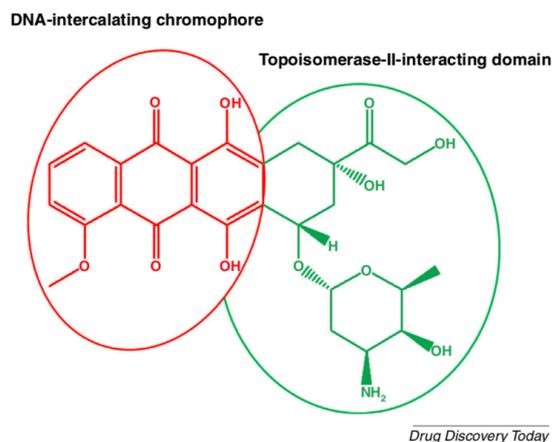


Figura 2. Relación estructura-actividad de DOX.

- Generación de radicales libres que pueden conducir al desencadenamiento de vías apoptóticas de muerte celular, peroxidación de lípidos, estrés oxidativo y daño en membranas celulares, ADN y proteínas. Esto sucede debido a que la estructura de la quinona de DOX participa en reacciones redox como aceptor de electrones, convirtiéndose en un metabolito inestable el cual puede provocar lesiones en el ADN por sí mismo o puede volver a su forma de quinona produciendo especies reactivas de oxígeno (ROS) como superóxido, radicales hidroxilo o peróxido. (4)

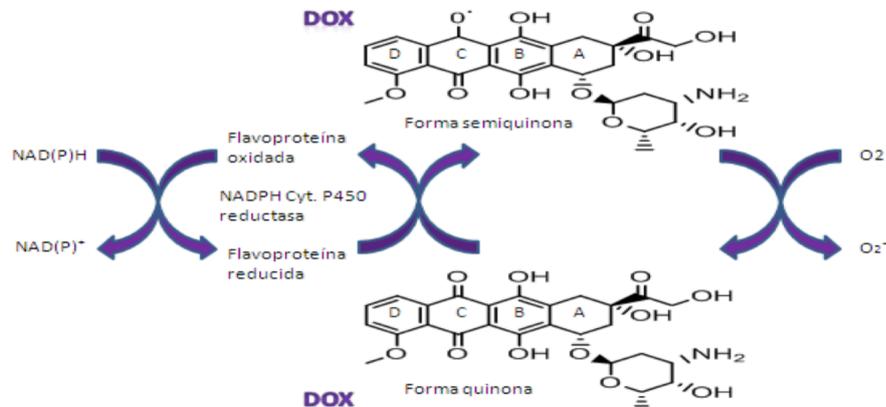


Figura 3. Ciclo de oxidoreducción de DOX.

2.1.3. Toxicidad

Al igual que cualquier otro agente quimioterápico, DOX presenta diferentes efectos adversos, siendo la cardiotoxicidad uno de los más importantes. Esto es debido a que las moléculas de DOX con carga positiva se acumulan preferentemente en las mitocondrias de los miocitos dada su alta afinidad por cardiolipina, lípido aniónico que se encuentra predominantemente en las membranas mitocondriales internas abundantes en el tejido cardíaco. (5)

Dicha cardiotoxicidad se presenta como miocardiopatía dependiente de la dosis, por lo que no debe pasarse un umbral de dosis acumulada establecido en 450-500 mg/m².

Existen factores de riesgo que pueden aumentar su aparición, como existencia de enfermedad cardíaca previa o actual, edad, raza, exposición a radiaciones, etcétera.

Se puede clasificar en:

- Acontecimientos tempranos (cardiotoxicidad aguda): se caracteriza por alteraciones del ritmo cardíaco, principalmente taquicardia sinusal y/o alteraciones del ECG y taquiarritmias. Estos síntomas suelen aparecer dentro de las 24 horas posteriores a la administración, indican toxicidad aguda transitoria y no suelen predecir el desarrollo subsiguiente de cardiotoxicidad tardía. Generalmente no se consideran para la interrupción del tratamiento.
- Acontecimientos tardíos (cardiotoxicidad crónica): habitualmente se desarrollan entre 2 y 3 meses después de la finalización del tratamiento, aunque también se han registrado casos más tardíos, incluso de varios años posteriores. Se manifiesta con una reducción de la fracción de eyección ventricular izquierda (FEVI) y/o signos y síntomas de insuficiencia cardíaca congestiva (ICC), siendo ésta última potencialmente mortal. (6)

Entre otros efectos adversos de DOX se encuentran: mielosupresión (también limitante de la dosis), alopecia reversible, hiperpigmentación, náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea, deshidratación... (7)

2.2. Nanotecnología

De acuerdo a la Comisión Europea los nanomateriales son materiales cuyas partículas presentan un tamaño entre 1 y 100 nanómetros en al menos una dimensión. Sin embargo, no se ha establecido un concepto claro para su definición en el campo científico, especialmente en relación con el límite de tamaño de las partículas.

En el campo de la nanomedicina, la aceptación común extiende esta definición a partículas con dimensiones de hasta 1000 nm. Los objetivos principales de los nanomateriales en este campo incluyen obtener como resultado fármacos más específicos, con una concentración mínima efectiva menor y mayor vida media; valoración de la posibilidad de encapsular más de un principio activo, reducir o moderar alguno de sus efectos secundarios; y mejorar tanto parámetros farmacocinéticos, farmacodinámicos y perfil de seguridad de los medicamentos. (8)

El cáncer ha sido uno de los campos más estudiados en los que se ha aplicado la nanotecnología. (9)

3. Objetivos

Debido a los efectos adversos de la terapia convencional con DOX, principalmente la cardiotoxicidad descrita anteriormente, se han desarrollado distintas formulaciones con el fin de conservar la misma eficacia y reducir los efectos secundarios.

Desde 1990 se han diseñado varias preparaciones de DOX basadas en nanotecnología, algunas de ellas aprobadas por la FDA.

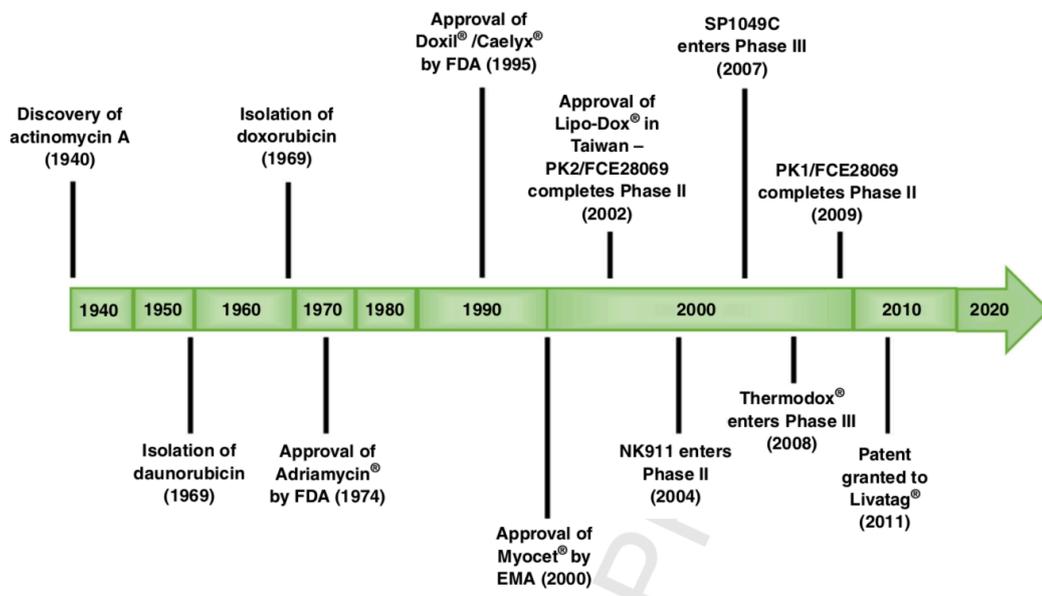


Figura 4. Cronología basada en la historia e investigación farmacéutica de DOX.

4. Metodología

Se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica de artículos y revisiones en castellano e inglés en buscadores como PubMed, MEDLINE y ScienceDirect utilizando términos que abarcan sistemas farmacéuticos basados en la nanotecnología, doxorubicina y cáncer.

5. Resultados y discusión

5.1 Liposomas

5.1.1. Características generales, métodos de obtención y carga de fármacos.

Los liposomas son estructuras esféricas vesiculares, altamente organizadas, de tamaño microscópico (20 a 5 μm de diámetro). Presentan una pared formada por lamelas o bicapas lipídicas concéntricas, que encierran un número igual de espacios con contenido acuoso en su interior. Son capaces de integrar moléculas hidrofílicas en el núcleo acuoso, hidrofóbicas en la bicapa lipídica y también de carácter anfílico (como es el caso de DOX). Según el número de bicapas lipídicas que presenten, los liposomas se clasifican en vesículas unilamelares grandes (LUV; 100-200 nm), vesículas unilamelares pequeñas (SUV; 20-100 nm) o multilamelares grandes (MLV; igual o mayor a 500 nm). (10)

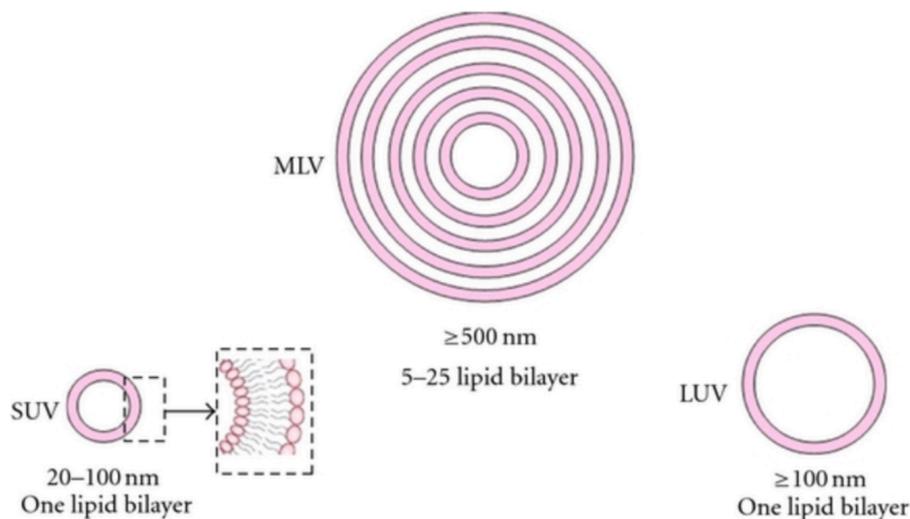


Figura 5. Clasificación de los liposomas en función de la lamelaridad.

La membrana lipídica está formada por una mezcla de fosfolípidos compuestos por una molécula de glicerol, ácidos grasos (1,2-diacilglicerol) y un grupo fosfato. Siendo la lecitina (fosfatidilcolina) el fosfolípido más utilizado ya que se extrae de fuentes naturales como la yema de huevo y la semilla de soja. En su composición también podemos encontrar moléculas de colesterol, que otorgan una mayor estabilidad y una reducción de la permeabilidad de las bicapas. (11)

El método general de preparación de liposomas comprende cuatro etapas básicas:

- Secado de lípidos a partir de disolventes orgánicos.
- Dispersión de lípidos en medio acuoso.
- Purificación del liposoma resultante. Consiste en la eliminación del disolvente orgánico por centrifugación, diálisis, evaporación, filtración o ultrafiltración, entre

otras técnicas. El uso de una técnica u otra dependerá del tipo de liposoma (MLV, LUV o SUV).

- Análisis del producto final.

La carga de fármacos se puede lograr de forma pasiva, es decir, el fármaco se encapsula durante la formación de liposomas; o activa, posterior a la formación.

Las técnicas de carga pasiva incluyen tres métodos diferentes: método de dispersión mecánica, método de dispersión del disolvente y método de eliminación de detergente. Se utilizan para cargar fármacos hidrófobos logrando en la mayor parte de los casos una efectividad de atrapamiento del 100%, dependiente de la solubilidad del fármaco en la membrana liposomal.

Sin embargo para fármacos hidrosolubles la efectividad de captura se reduciría a un 30% al encontrarse limitada por el volumen delimitado en el interior del liposoma y la solubilidad del fármaco.

Por esta razón, los fármacos hidrosolubles que presentan grupos ionizables, como DOX, se cargan generalmente empleando técnicas de carga activa mediante la generación de gradientes de pH posteriores a la formación del nanotransportador. (12, 13)

Requerimientos	Soluciones
Tiempo de circulación prolongado en el plasma humano.	Desarrollo de liposomas estabilizados estéricamente compuestos por fosfolípidos de alto T _m , colesterol o lipopolímero como 2000PEG-DSPE.
Niveles suficientes y carga estable del fármaco para alcanzar el lugar de acción.	Uso de gradientes de pH/iones de amonio para conseguir la carga activa en fármacos anfipáticos.
Extravasación en tejido tumoral.	Uso de partículas suficientemente pequeñas (aproximadamente 100 nm) para extravasación eficaz aprovechando el efecto de permeabilidad y retención (EPR).
Obtención de fármaco activo en células diana.	Liberación selectiva del fármaco de los liposomas, debido a sensibilidad frente a fosfolipasas secretoras, aplicación de métodos físicos (calor, ultrasonido), gradiente de iones, etc.

Figura 6. Tabla de requisitos para lograr liposomas cargados de fármacos terapéuticamente eficaces frente a tejidos cancerosos. T_m: temperatura de transición de fase característica de cada fosfolípido, dependiente del tamaño de la/s cadena/s, presencia de insaturaciones y naturaleza de la cabeza polar. Valores de T_m relativamente altos hacen que la preparación sea menos propensa a la fuga de fármacos, lo que mejora su estabilidad. EPR: enhanced permeability and retention effect. (14)

5.1.2. DLP de DOX: Doxil® y Caelyx®

El Comité Asesor de Fármacos Oncológicos (ODAC) recomendó la aprobación de Doxil® por parte de la FDA en noviembre de 1995. Un año después fue comercializado como Doxil® en EEUU y como Caelyx® en la Unión Europea.

Se trata de una formulación constituida por una bicapa liposomal pegilada compuesta de metoxipolietilenglicol (MPEG) y cargada con DOX (de un tamaño aproximado de 80-90 nm), que comprende fosfatidilcolina de soja totalmente hidrogenada, colesterol y MPEG-dietearoli fosfatidil etanol amina (DSPE) (2000PEG-DSPE).

La pegilación es la unión covalente de una o más moléculas de polietilenglicol (PEG) a un fármaco, generando así un derivado muy estable que se caracteriza por presentar una velocidad de absorción y de eliminación relacionadas directamente con el peso molecular del PEG. La estructura básica de cualquier PEG es $H(OCH_2CH_2)_nOH$ y existen tantos como número de repeticiones de la estructura básica sea posible.

Los PEG son polímeros no tóxicos y solubles en agua que protegen al fármaco del aclaramiento renal, degradación enzimática y reconocimiento celular por el sistema inmunológico. La pegilación puede ser lineal, con una única cadena de PEG o cadena ramificada, además también es posible la unión de varios PEG lineales o ramificados a un mismo fármaco en distintos lugares de su estructura. Esta técnica evita que los liposomas sean detectados por el sistema mononuclear fagocítico (SMF) aumentando así su tiempo de permanencia en sangre.

La DOX liposomal pegilada presenta un aclaramiento (Cl) de $0,04L/h/m^2$ y una vida media de aproximadamente unas 55h. (15, 16)

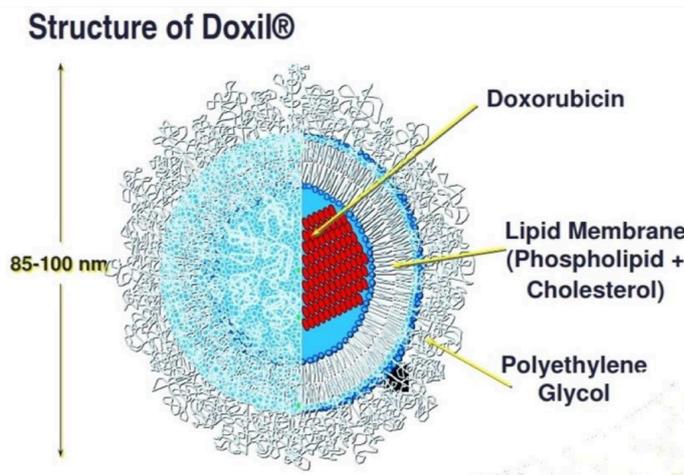


Figura 7. Imagen esquemática de la estructura de Doxil®.

Su utilización se encuentra aprobada para las siguientes indicaciones:

- Tratamiento del sarcoma de Kaposi (SK) en pacientes con VIH que no han tolerado la combinación de quimioterapia estándar o aquellos en los que ha progresado la enfermedad a pesar de la terapia (1995). Demostrando ser más eficaz respecto a otros quimioterápicos administrados previamente para la misma patología.

Obteniendo un 70% de pacientes respondedores al tratamiento ya sea de forma completa o parcial.

- Tratamiento de cáncer de ovario avanzado recurrente (1998). Siendo tan eficaz como el topotecán (fármaco empleado para la misma indicación).
- Tratamiento de cáncer de mama metastásico con riesgo cardiaco aumentado, en monoterapia (2003). El tratamiento con Caelyx® se considera tan eficaz como el tratamiento con doxorubicina estándar, sin embargo, los pacientes tratados con Caelyx® presentan menos posibilidades de experimentar problemas cardiacos, presentando así una mayor perfil de seguridad.
- Tratamiento de mieloma múltiple progresivo en combinación con bortezomib (2007).

Su aprobación por la FDA se basa en varios principios no relacionados: (1) el tiempo de circulación prolongado en el plasma debido al uso de liposomas PEGilados y la presencia de la bicapa lipídica compuesta de fosfatidilcolina de alto Tm (53°C) y colesterol; (2) la carga alta y estable de DOX para alcanzar el lugar de acción impulsada por un gradiente de sulfato de amonio transmembrana, ya que los niveles de amonio se ven aumentados en tumores. (14, 17)

El perfil toxicológico presenta diferencia respecto al de la DOX convencional, siendo el efecto adverso más común las náuseas en más de 1 de cada 10 pacientes.

Otros efectos secundarios muy comunes incluyen la eritrodisestesia palmo-plantar (EPP) también conocido como síndrome mano-pie, que se caracteriza por la aparición de erupciones cutáneas dolorosas con enrojecimiento, hinchazón y dolor en las palmas de las manos y/o en las plantas de los pies. Otros: vómitos, estomatitis, bajo recuento de células sanguíneas, diarrea, estreñimiento y mucositis (inflamación de la boca y garganta). (18, 19)

5.1.3. DLNP de DOX: Myocet®

Cinco años después de la aprobación de Caelyx® la EMA aprobó Myocet®, alternativa no PEGilada que mostró mejoras en el perfil farmacocinético y toxicológico en comparación con la DOX convencional y disminuyó la aparición del síndrome mano-pie de los preparados PEGilados.

Los liposomas están formados por fosfatidilcolina (PC) y colesterol (CHO) cargados con DOX clorhidrato (HCl). Presentan un tamaño de 190 nm aproximadamente con una eficiencia de encapsulación superior al 95%. Una vez preparada la suspensión liposómica se les somete a un proceso de liofilización.

Para su administración, deben reconstituirse y posteriormente diluirse. Se administran por perfusión intravenosa durante 1 hora. Su uso está aprobado en Europa y Canadá para el tratamiento del cáncer de mama metastásico en combinación con ciclofosfamida y está en proceso su aprobación por la FDA en Estados Unidos. (23)

El aumento del tiempo de circulación de DOX en sangre tras administrar Myocet en comparación con la administración de DOX convencional se ha demostrado tanto en ratones, como en perros y humanos. El área bajo la curva (AUC) para DOX tras administración de Myocet® fue de aproximadamente 123 µM/h en comparación con 1,3 µM/h para DOX convencional. Este AUC es un parámetro farmacocinético que refleja la cantidad total de fármaco que alcanza la circulación sistémica. Constituye la medida más

importante de la biodisponibilidad y relaciona las variedades de concentración plasmática de un fármaco en función del tiempo. Expresa muy bien la cinética de absorción y cuantitativamente engloba los términos de velocidad de absorción y cantidad de fármaco que llega a la sangre. (24)

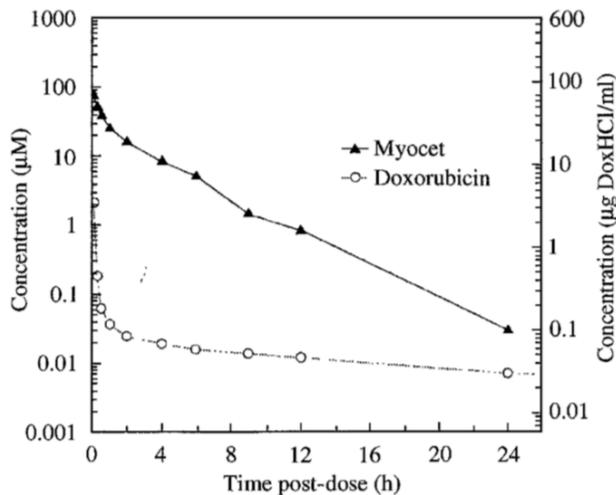


Figura 8. Niveles plasmáticos de DOX en perros que recibieron una inyección intravenosa de DOX convencional o Myocet®. Los triángulos representan valores de Myocet® y los círculos de DOX convencional.

En relación con DOX libre según estudios comparativos de Fase III, Myocet® presenta baja incidencia de problemas cardiacos (13% frente a 29%), mucositis/estomatitis (8,6% frente a 11,9%) y náuseas/vómitos (12,3% frente a 20,3%), sin embargo las tasas de supervivencia fueron equivalentes en ambas formas de administración. Lo que sugiere que la ventaja de Myocet® frente a la administración de DOX libre radica únicamente en la reducción de las toxicidades, mostrando una ventana terapéutica mejorada, una reducción significativa de la cardiotoxicidad y un perfil de efectos secundarios generalmente mejorado. (25, 26)

El mayor inconveniente de las formulaciones liposomales no pegiladas es que pueden ser detectadas por el sistema mononuclear fagocítico (SMF) y como consecuencia eliminadas rápidamente de la circulación sanguínea impidiendo su distribución a tumores sólidos.

5.1.4. Lipodox®

En diciembre de 2011 la AEMPS publicó una nota informativa comunicando que quedaba interrumpido a nivel mundial el suministro normal de Caelyx® (2mg/ml) debido a problemas de fabricación en el sitio de producción único. El titular de la autorización de comercialización informó a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) sobre la cantidad límite de viales que podían sacarse al mercado, para poder establecer un plan de distribución y acceso controlado a dicho medicamento asegurando así que los pacientes que lo recibieran fueran aquellos que más pudieran beneficiarse o para los que no existieran otras alternativas terapéuticas.

Debido a la limitada disponibilidad de viales y la necesidad clínica del fármaco, la AEMPS decidió autorizar de forma temporal la importación y distribución de Lipodox® a principios del año 2012.

Se trata de una formulación que presenta el mismo principio activo, dosis, vía de administración y proceso de carga del fármaco equivalentes a Caelyx®. Se desconoce si

podríamos considerarlo como formulación liposómica genérica o “genérico de Caelyx®”, término que aún sigue causando controversia y no se dispone de datos de uso en combinación con otros medicamentos.

Lipodox® no ha sido autorizado por la EMA ni por ninguna autoridad sanitaria de los Estados miembros, sino que su importación se hizo como respuesta temporal ante una situación excepcional para cubrir las necesidades de doxorubicina liposomal hasta que se restableciera el suministro normal de Caelyx®. La AEMPS autorizó su importación y distribución considerándolo medicamento en situaciones especiales y se recomendó a los médicos prescriptores sopesar otras alternativas terapéuticas antes de considerar su uso.

Todos los estudios clínicos fueron no comparativos y no se han realizado ensayos clínicos de Fase III hasta la fecha. (20, 21, 22)

5.1.5. ThermoDox®

Para determinadas líneas de tratamiento, las técnicas de ablación térmica son una de las terapias más aplicadas. ThermoDox® utiliza la tecnología LTSL, formulación liposomal sensible a la temperatura.

Estos liposomas de 100 nm están compuestos por LTLD (doxorubicina liposomal lio-termorreversible), formulación constituida por DPPC, MSPC y DSPE-MPEG2000; fosfolípidos sintéticos que proporcionan la única liberación térmica y rápida formulada de doxorubicina.

Diseñado para proporcionar una encapsulación casi completa de DOX HCl con una liberación rápida de la misma mediante calentamiento térmico suave entre 40-45°C. El liposoma sensible al calor cambia rápidamente de estructura al calentarse, creando aberturas en el mismo que liberan DOX directamente alrededor y dentro del tumor al que está dirigido.

Al aumentar la temperatura, los vasos sanguíneos en los tumores se vuelven aún más permeables obteniendo como consecuencia una mayor acumulación de liposomas en los mismos. El efecto mejorado de la permeabilidad y retención surge debido a la fisiopatología de la zona del tumor, que incluye un aumento de la permeabilidad vascular y un drenaje linfático alterado. El acceso de los nanoliposomas a los tejidos normales está limitado por la ausencia de estas características fisiopatológicas. Los nanoliposomas deben circular y retener la carga de fármaco en el torrente sanguíneo durante periodos prolongados que permitan el depósito gradual del fármaco en el tejido tumoral a lo largo del tiempo.

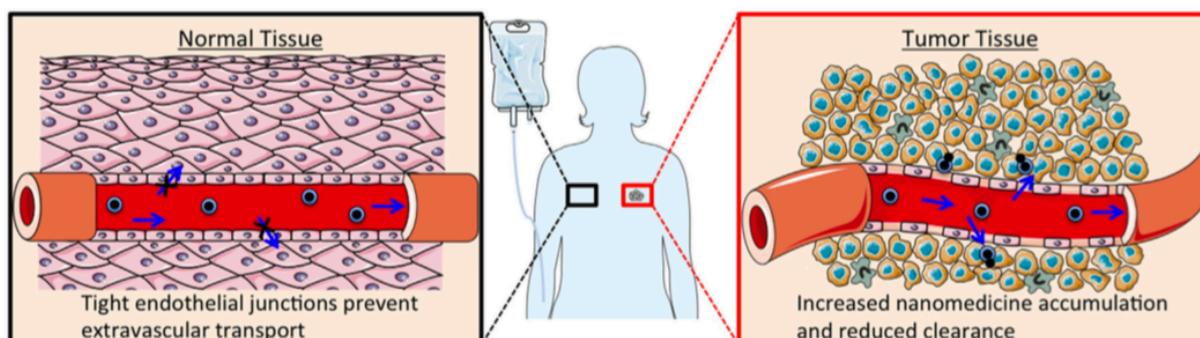


Figura 9. Diferencias de permeabilidad de los vasos sanguíneos en zona tumoral y zona sana.

En modelos animales se ha demostrado que ThermoDox® libera 25 veces más de DOX que en el tratamiento de tumores con DOX libre y 5 veces más en el caso de tratamientos con formulaciones liposómicas estándar. Está diseñado para ser utilizado en combinación con tratamientos basados en el calor como la ablación térmica por radiofrecuencia, hipertermia por microondas o el ultrasonido focalizado de alta intensidad (HIFU). El objetivo es ampliar los tratamientos efectivos para las micrometástasis, responsables más comunes de la recurrencia de la enfermedad posterior al tratamiento. (27, 28, 29)

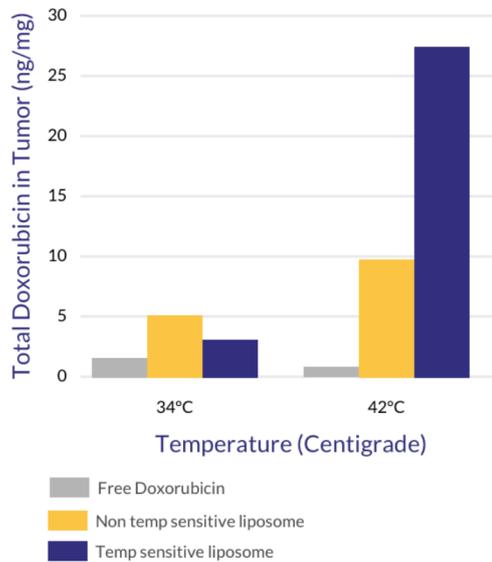


Figura 10. Ensayo in vivo: después de 1 hora a 42 °C, la formulación sensible al calor liberó mayor volumen de fármaco al tumor.

5.2. Nanopartículas

Tipo de nanotransportadores formados por polímeros naturales o sintéticos, biocompatibles y aprobados por la FDA, tales como PLA (ácido poliláctico), PGA (ácido poliglicólico), PLGA (ácido poliláctico-co-glicólico), PCL (policaprolactona) y polimetacrilato de metilo. Sus métodos de preparación se pueden clasificar en polimerización de los monómeros y dispersión de los monómeros preformados.

El fármaco puede ser físicamente incorporado, químicamente unido, adherido o absorbido. Cuando se comparan con otros sistemas coloidales, las nanopartículas presentan la ventaja de ser más estables, particularmente en fluidos corporales, después de su administración. (30)

5.2.1. Livatag®

Formulación nanoparticulada capaz de administrar DOX (100-300 nm) en células quimiorresistentes a la cual se le otorgó un estatus de medicamento huérfano en Europa y Estados Unidos.

Ha sido evaluada en pacientes con carcinoma hepatocelular avanzado, descrito como altamente quimiorresistente. Los resultados del seguimiento del estudio en Fase II mostraron una supervivencia media de 32 meses para el grupo de pacientes tratados con Livatag®, en comparación con 15 meses para los pacientes que reciben el tratamiento de primera línea actual. Esta diferencia significativa en 17 meses en la supervivencia media es la

base para un fuerte interés en el producto mientras está en espera de resultados clínicos. Actualmente, esta preparación está en desarrollo por Onxeo y se encuentra en estudios clínicos de Fase III. (31, 32)

5.3. Conjugados poliméricos

Desde el punto de vista industrial, los polímeros terapéuticos son considerados nuevas entidades químicas y no simples sistemas convencionales de transporte de fármacos. Entre los nanotransportadores hay dos estrategias principales que generalmente se aplican para administrar el agente quimioterápico al sitio del tumor; los sistemas de transporte tradicionales que solubilizan, atrapan o liberan de forma controlada el agente bioactivo sin utilizar una conjugación química y la conjugación del fármaco antineoplásico con un polímero hidrofílico o anfifílico por enlace covalente.

Las terapias con nanopartículas basadas en polímeros presentan una estabilidad in vivo adecuada y ofrecen nuevas vías para mejorar la administración de medicamentos mejorando su solubilidad, aumentando su permanencia en circulación sanguínea y aumentando la captación por el tumor debido al aumento de la permeabilidad (permite la extravasación de moléculas de alto PM como las proteínas y los conjugados polímero-fármaco) y efecto de retención. Logrando altos niveles de direccionamiento pasivo al tumor por sus propiedades farmacocinéticas y direccionamiento activo por su posibilidad de unión de ligando específico al portador polimérico para R asociados a célula tumoral. (33)

Dentro de los conjugados poliméricos se distinguen los conjugados polímero-proteína y polímero-fármaco. En los conjugados polímero-proteína se busca una mayor estabilidad en suero junto con una disminución en inmunogenicidad, mientras que en los conjugados polímero-fármaco se quiere incidir en la farmacocinética del mecanismo de internalización celular y liberación óptima para alcanzar la diana molecular.

En los últimos años, varios conjugados de polímeros solubles acuosos han entrado en ensayos clínicos de Fase I y Fase II como agentes quimioterápicos entre los cuales tres de ellos son transportadores de DOX: PK1 (Fase II), DOX-ORD (Fase I) y PK2 (Fase II). (34)

5.3.1. FCE28068/PK1

El primer conjugado polimérico de DOX que alcanzó los ensayos clínicos de Fase II se conoce como PK1 o FCE28068. Esta formulación está compuesta por la antraciclina unida covalentemente a copolímeros de HPMA (N-(2-hidroxypropil)metacrilamida) a través de un espaciador tetrapeptídico (Gly-Phe-Leu-Gly), diseñado para la escisión por catepsinas lisosomales aumentadas en las células tumorales. Tras la entrada del fármaco en las células tumorales mediante pinocitosis, el espaciador se escinde permitiendo la liberación intracelular de DOX activa, favoreciendo así la liberación del fármaco en el sitio activo del tumor.

En un estudio clínico de Fase I se evaluó PK1 para definir la dosis máxima tolerable, perfil de toxicidad y sus parámetros farmacocinéticos después de 100 ciclos de infusión intravenosa cada 3 semanas. Como resultados se observaron una vida media en plasma prolongada debido a la disminución del aclaramiento en comparación con DOX libre y disminución significativa de la toxicidad particularmente cardiaca y de médula ósea, concluyendo una

actividad antitumoral notablemente mejorada, particularmente en modelos de tumores sólidos.

Posteriormente se llevó a cabo un ensayo clínico de Fase II para tratamiento de cáncer de mama, cáncer de pulmón y cáncer colorrectal, para este último no hubo respuesta frente al fármaco.

Actualmente no se ha publicado ninguna otra evolución clínica desde dicha formulación. (8, 35)

5.3.2. FCE28069/PK2

Consiste en un copolímero de HPMA conjugado con DOX mediante enlace covalente, unido a residuos de galactosamina (GAL). Estos residuos median la focalización hepática activa a través del receptor de asialoglicoproteína (ASGPR) de los hepatocitos. Se diseñó con el objetivo de proporcionar un nuevo tratamiento para pacientes con carcinoma hepatocelular, debido a la selectividad proporcionada por los residuos de galactosamina y la incapacidad de extravasación del polímero por difusión pasiva dado su alto peso molecular limitándolo en circulación sanguínea.

Estudios farmacocinéticos en ratas y ratones demostraron que la administración intravenosa de PK2 condujo a una selección más efectiva del hígado con más del 70% de la dosis de DOX dirigida selectivamente a la diana, demostrado también en estudios clínicos tempranos en el ser humano. Al igual que PK1 mostró una toxicidad disminuida, especialmente en médula ósea y una actividad antitumoral significativa in vivo respecto a DOX libre, lo que puede explicarse por su farmacocinética. (36)

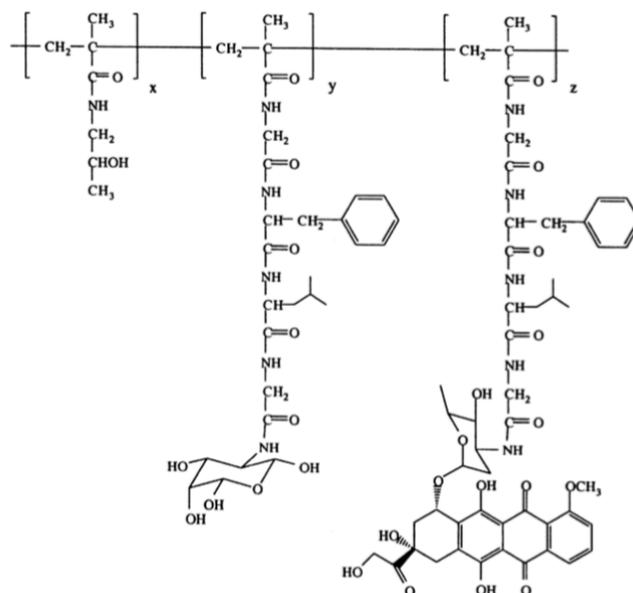


Figura 11. Estructura química de PK2.

5.4. Micelas poliméricas

Representan uno de los nanotransportadores más estudiados en diagnóstico y farmacoterapia de numerosas enfermedades. Las micelas poliméricas son estructuras que se

forman espontáneamente mediante auto-ensamblado de moléculas poliméricas anfifílicas (copolímeros) una vez superada la concentración micelar crítica (CMC).

Los bloques hidrofóbicos se asocian para formar un dominio interno denominado núcleo micelar, capaz de solubilizar y alojar fármacos liposolubles, mientras que los bloques hidrofílicos se encuentran en contacto directo con el medio externo, normalmente acuoso, estabilizando físicamente la micela y previniendo la interacción del fármaco con el medio, aumentando así su estabilidad fisicoquímica. La cesión del fármaco encapsulado dependerá de parámetros como viscosidad, espesor y porosidad e interacción fármaco-núcleo. Son físicamente estables a la dilución lo que permite que mantengan su integridad durante mayor tiempo cuando se encuentran en el torrente circulatorio.

El tamaño nanoscópico de las micelas poliméricas permite que éstas se acumulen en tumores altamente vascularizados por vectorización pasiva. La superficie de la micela puede incluir ligandos como folato (FOL), anticuerpos monoclonales (mAb) y monosacáridos (manosa, glucosa, fructosa), con el fin de que puedan ser reconocidas por receptores celulares específicos y captadas selectivamente por células concretas, conocido como vectorización activa.

Como consecuencia de su tamaño, son lo suficientemente grandes para evitar su eliminación temprana por filtración glomerular y lo suficientemente pequeños para pasar a través de ciertos vasos sanguíneos.

Estas ventajas se traducen en un mayor tiempo de presencia del fármaco en el torrente sanguíneo, mayor biodisponibilidad, reducción de la dosis administrada y posible disminución de la toxicidad como resultado de la administración más precisa del fármaco a los tejidos diana. (37)

Entre las preparaciones micelares de DOX destacan dos formulaciones que han alcanzado ensayos clínicos de Fase II (NK911) y Fase III (SP1049C).

5.4.1. SP1049C

Formulación de micelas poliméricas de DOX, constituida por una solución de DOX con una mezcla de 0,25% de Pluronic L61 y 2% de Pluronic F127 en solución salina tamponada isotónica. Pluronic L61 y F127 pertenecen al tipo de copolímeros Pluronic¹. Son copolímeros ternarios de poli óxido de etileno (PEO) que forman la corona hidrófila y poli óxido de propileno (PPO) constituyentes del núcleo hidrófobo.

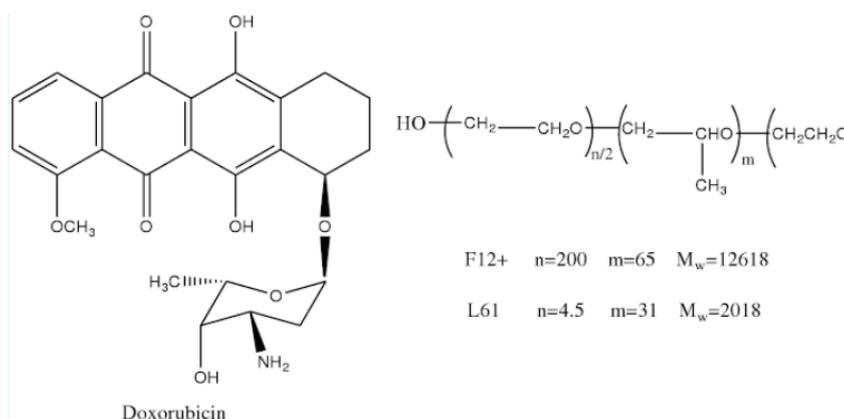


Figura 12.
Estructura química de SP1049C.

SP1049C ha demostrado en un ensayo clínico de Fase II altas tasas de respuesta objetiva (43%) y un aumento de la supervivencia media (10 meses), demostrando ser eficaz contra el adenocarcinoma de esófago, siendo la neutropenia su principal toxicidad. (38, 39)

5.4.2. NK911

Es la primera preparación micelar que procedió a evaluaciones clínicas. Consiste en un nanotransportador copolímero de bloque de PEG que compone la capa externa de la micela y poli ácido aspártico (ASP/PEG) presente en el núcleo interno, conjugado con DOX.

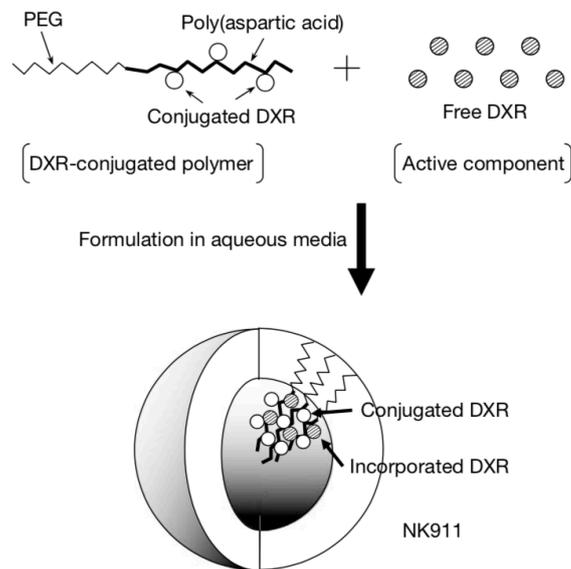


Figura 12. Estructura esquemática de NK911.

Al igual que en formulaciones anteriores, NK911 presenta mayor vida media plasmática, mayor acumulación en los tumores debido al efecto EPR y muestra mayor actividad antitumoral que la DOX libre administrada en ratones. Sin embargo, el área bajo la curva (AUC) de NK911 fue mayor que el de DOX libre, pero significativamente más bajo que el de los liposomas PEGilados. Aún así, la formulación micelar ha pasado a estudios clínicos de Fase II contra el cáncer de páncreas metastásico. (40, 41)

6. Conclusiones

Las nanopartículas presentan un gran potencial de utilización en sistemas de vehiculización de fármacos. Su uso como vectores de medicamentos proporciona grandes avances en el tratamiento de enfermedades como el cáncer. Gracias a estos avances en la ciencia se pueden estudiar nuevas formas de transporte selectivo de fármacos hacia el tejido diana y minimizar los efectos secundarios.

Existe un número considerable de formulaciones de DOX basadas en nanotecnología en ensayos clínicos de Fase II y Fase III, algunas de las cuales han mostrado resultados prometedores, incluso en comparación con la terapia convencional.

Sin embargo, los liposomas, entre las formulaciones de DOX basadas en nanotecnología, son los únicos nanotransportadores aprobados por agencias reguladoras como la FDA o la EMA. No hay ningún otro tipo de nanovehículo cargado con DOX que haya sido aprobado por ninguna de estas agencias. Esto se debe probablemente a que los liposomas son los primeros nanosistemas desarrollados y comercializados y, por lo tanto, se conocen más datos de estudios e investigaciones.

Respecto a la Industria Farmacéutica y Agencias Reguladoras se ha producido un cambio de paradigma, pasando de terapias convencionales y generalizadas, a una medicina más personalizada en la que el genoma y la respuesta inmunitaria del paciente son la base de terapias mejoradas, específicas y más eficaces basadas en la nanotecnología.

Probablemente, los beneficios clínicos de estos nuevos vectores nanotecnológicos basados en ligandos no tardarán en aparecer avanzando así aún más en la aparición de nuevos vectores de DOX para aplicación endovenosa.

7. Bibliografía

- (1) [Internet]. Seom.org. 2019 [cited 30 June 2019]. Available from: <https://seom.org/dmccancer/wp-content/uploads/2019/Informe-SEOM-cifras-cancer-2019.pdf>
- (2) Cagel, M. et al. Doxorubicin: nanotechnological overviews from bench to bedside, *Drug Discov Today* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2016.11.005>
- (3) Cagel M, Grotz E, Bernabeu E, Moretton M, Chiappetta D. Doxorubicin: nanotechnological overviews from bench to bedside. *Drug Discovery Today*. 2017;22(2):270-281.
- (4) Thorn, C.F. et al. (2011) Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects. *Pharmacogenet. Genomics* 21, 440–446
- (5) Ichikawa, Y. et al. (2014) Cardiotoxicity of doxorubicin is mediated through mitochondrial iron accumulation. *J. Clin. Investig.* 124, 617–630
- (6) Ficha técnica Doxorubicina Accord. Base de datos CIMA. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/cima/fichastecnicas>.
- (7) Aiken, M.J. et al. (2009) Doxorubicin-induced cardiac toxicity and cardiac rest gated blood pool imaging. *Clin. Nucl. Med.* 34, 762–767.
- (8) Schu"tz, C.A. et al. (2013) Therapeutic nanoparticles in clinics and under clinical evaluation. *Nanomedicine* 8, 449–467.
- (9) Lobato E. [Internet]. *Invassat.gva.es*. 2019. Available from: <http://www.invassat.gva.es/documents/161660384/163766431/Aplicaciones+de+la+nanotecnolog%C3%ADa+en+medicina/ac724e20-afbb-4748-8b0c-c3bc51f2564d>
- (10) Akbarzadeh, A. et al. (2013) Liposome: classification, preparation and applications. *Nanoscale Res. Lett.* 8, 102.
- (11) Watwe RM, Bellare JR. Manufacture of Liposomes - a Review. *Curr Sci.* 1995;68:715– 724.
- (12) Akbarzadeh, A. et al. (2013) Liposome: classification, preparation and applications. *Nanoscale Res. Lett.* 8, 102
- (13) Himanshu, A. et al. (2011) Liposomes as drug carriers. *Int. J. Pharm. Life Sci.* 2, 945–951

- (14) Barenholz, Y. (2012) Doxil -the first FDA-approved nano-drug: lessons learned. *J. Control. Release* 160, 117–134
- (15) Aranza J.R. [Internet]. Aeeh.es. 2019. Available from: <http://aeeh.es/wp-content/uploads/2012/05/v1n5a61pdf001.pdf>
- (16) Ivens I, Achanzar W, Baumann A, Brändli-Baiocco A, Cavagnaro J, Dempster M et al. PEGylated Biopharmaceuticals. *Toxicologic Pathology*. 2015;43(7):959-983.
- (17) Ficha técnica Caelyx®,. Base de datos CIMA. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/cima/fichastecnicas>
- (18) Caelyx - European Medicines Agency [Internet]. European Medicines Agency. 2019. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/caelyx>
- (19) Síndrome mano-pie o eritrodisestesia palmoplantar [Internet]. Cancer.Net. 2019. Available from: <https://www.cancer.net/es/asimilación-con-cáncer/efectos-f%C3%ADsicos-emocionales-y-sociales-del-cáncer/manejo-de-los-efectos-secundarios-f%C3%ADsicos/s%C3%ADndrome-mano-pie-o-eritrodisestesia-palmoplantar>
- (20) Gaspani S, Milani B. Access to liposomal generic formulations: beyond Ambisome and Doxil/Caelyx - GaBI Journal [Internet]. Gabi-journal.net. 2019 [cited 30 June 2019]. Available from: <http://gabi-journal.net/access-to-liposomal-generic-formulations-beyond-ambisome-and-doxilcaelyx.html>
- (21) [Internet]. Aemps.gob.es. 2019. Available from: https://www.aemps.gob.es/informa/notasInformativas/medicamentosUsoHumano/problemasSuministro/2012/docs/NI-MUH_11-2012.pdf.
- (22) Fan, Y. and Zhang, Q. (2013) Development of liposomal formulations: from concept to clinical investigations. *AJPS* 8, 81–87
- (23) Rivankar S. An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. 2014;10(4):853.
- (24) Akbarzadeh, A. et al. (2013) Liposome: classification, preparation and applications. *Nanoscale Res. Lett.* 8, 102 .
- (25) Fan Y, Zhang Q. Development of liposomal formulations: From concept to clinical investigations. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013;8(2):81-87.
- (26) Marty M. Liposomal doxorubicin (Myocet™) and conventional anthracyclines: a comparison. *The Breast*. 2001;10:28-33.
- (27) Dunne M, Hynynen K, Allen C. Thermosensitive nanomedicines could revolutionize thermal therapy in oncology. *Nano Today*. 2017;16:9-13.
- (28) ThermoDox [Internet]. Celsion. 2019. Available from: <http://celsion.com/thermodox/>
- (29) Swenson C, Haemmerich D, Maul D, Knox B, Ehrhart N, Reed R. Increased Duration of Heating Boosts Local Drug Deposition during Radiofrequency Ablation in Combination with Thermally Sensitive Liposomes (ThermoDox) in a Porcine Model. *PLOS ONE*. 2015;10(10):e0139752.
- (30) Koo, O.M. et al. (2005) Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review. *Nanomedicine* 1, 193–212.
- (31) Alphandéry E, Grand-Dewyse P, Lefèvre R, Mandawala C, Durand-Dubief M. Cancer therapy using nanoformulated substances: scientific, regulatory and financial aspects. *Expert Review of Anticancer Therapy*. 2015;15(10):1233-1255.
- (32) Livatag® (Doxorubicin Transdrug™) follow up demonstrates significant survival increase in advanced hepatocellular carcinoma patients - onxeo [Internet]. onxeo.

2019. Available from: <https://www.onxeo.com/actualisation-des-resultats-de-livatag-doxorubicine-transdrug-augmentation-significative-de-la-duree-de-survie-des-patients-atteints-dun-carcinome-hepatocellulaire-avance/>

- (33) Sanyakamdorn S, Bekale L, Agudelo D, Tajmir-Riahi H. Structural analysis of doxorubicin-polymer conjugates. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2015;135:175-182.
- (34) Fang, X.B. et al. (2016) pH-sensitive micelles based on acid-labile pluronic F68-curcumin conjugates for improved tumor intracellular drug delivery. *Int. J. Pharm.* 502, 28–37.
- (35) Seymour. Phase II studies of polymer-doxorubicin (PK1, FCE28068) in the treatment of breast, lung and colorectal cancer. *International Journal of Oncology*. 2009;34(6).
- (36) Hopewell J, Duncan R, Wilding D, Chakrabarti K. Preclinical evaluation of the cardiotoxicity of PK2: A novel HEMA copolymer–doxorubicin–galactosamine conjugate antitumour agent. *Human & Experimental Toxicology*. 2001;20(9):461-470.
- (37) Cagel M, Tesan F, Bernabeu E, Salgueiro M, Zubillaga M, Moretton M et al. Polymeric mixed micelles as nanomedicines: Achievements and perspectives. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2017;113:211-228.
- (38) Sutton, D. et al. (2007) Functionalized micellar systems for cancer targeted drug delivery. *Pharm. Res.* 24, 1029–1046.
- (39) Valle, J.W. et al. (2011) A Phase 2 study of SP1049C, doxorubicin in P-glycoprotein-targeting pluronics, in patients with advanced adenocarcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction. *Investig. New Drugs* 29, 1029–1037.
- (40) Matsumura Y, Hamaguchi T, Ura T, Muro K, Yamada Y, Shimada Y et al. Phase I clinical trial and pharmacokinetic evaluation of NK911, a micelle-encapsulated doxorubicin. *British Journal of Cancer*. 2004;91(10):1775-1781.
- (41) Cabral, H. and Kataoka, K. (2014) Progress of drug-loaded polymeric micelles into clinical studies. *J. Control. Release* 190, 465–476.