

1. Introducción

JOSÉ LUIS VILA JATO

Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

Los principios activos son en general inadecuados para su administración al organismo sin que éstos sean incluidos en un vector por lo que la Farmacia ha desarrollado las llamadas formas farmacéuticas adaptadas a las diferentes vías de administración. Toda la galénica tradicional ha constituido un arte asombroso a lo largo de muchos siglos pero la moderna revolución farmacéutica conmocionó la Medicina y cambió la vida de los hombres al permitir la elaboración de medicamentos a escala industrial y que éstos pudiesen llegar a importantes poblaciones de pacientes. A pesar de su elaboración a escala industrial en la primera mitad del siglo XX la formulación de los medicamentos se puede considerar como un simple *modus operandi*, un hágase según arte, y no una verdadera ciencia. Pero en la década de los años 1950 figuras como el estadounidense Higuchi, el suizo Münzel y en España el profesor Cadórniga comienzan a considerar que la tecnología farmacéutica tiene una sólida base fisicoquímica cuyos principios deben ser tomados en consideración a la hora de incluir un principio activo en una formulación farmacéutica.

La década de los años 1960 supone la introducción de los conocimientos de la Biofarmacia y Farmacocinética los cuales provocaron una profunda transformación en la Farmacia Galénica al considerarse como imprescindible el conocimiento de los eventos del medicamento en el organismo humano (medio biológico) lo que supuso que los criterios biofarmacéuticos pasasen a representar un papel primordial en la formulación y desarrollo de las diferentes formas de dosificación. La aplicación de los principios fisicoquímicos y los conocimientos aportados por la Biofarmacia y la Farmacocinética han supuesto que la Tecnología Farmacéutica, aun conservando el término de tecnología, sea considerada actualmente como una verdadera ciencia.

En la respuesta producida por los medicamentos se deben considerar dos aspectos: tiempo que permanece el fármaco en su lugar de acción (aspecto temporal) y cantidad de fármaco que llega a su diana terapéutica (aspecto espacial). Las formulaciones convencionales no permiten controlar éstos dos aspectos por lo que mayoritariamente en la década de los años 1980 se desarrollaron nuevas estrategias y sistemas que tenían como finalidad conseguir una optimización de la liberación del principio activo con el objetivo de modificar el aspecto temporal, por medio de lo que actualmente se conoce como liberación controlada, dando lugar al desarrollo de nuevas formas de dosificación de medicamentos y a la administración de éstos a través de nuevas vías como la nasal, transdérmica, colónica, pulmonar, etc.

La última transformación profunda que ha sufrido la Tecnología Farmacéutica es una consecuencia de la necesidad de disponer de nuevas formas de dosificación adecuadas para el creciente número de moléculas terapéuticas procedentes del desarrollo de la Biotecnología. Estas moléculas, entre las que se incluyen péptidos, proteínas, fragmentos de anticuerpos, oligonucleótidos, etc representan un crecimiento muy importante ya que si en el año 2000 constituían el 25% de los medicamentos presentados ante la EMEA actualmente representan el 50% debido, en parte, al fuerte descenso experimentado por entidades químicas que supongan unas aportaciones realmente innovadoras.

En las últimas décadas ha tenido lugar un espectacular desarrollo de la biología celular y molecular que ha permitido no solo un mejor conocimiento de la fisiopatología de numerosos procesos patológicos sino también la identificación de diversas dianas terapéuticas con el consiguiente desarrollo de nuevos fármacos cuya estructura va desde sencillas moléculas a complejas macromoléculas como proteínas o plásmidos. Estas moléculas, tal como se recoge en la Figura 1.1, pueden tener actualmente un variado origen pero con frecuencia presentan problemas de solubilidad y, para alcanzar una adecuada biodisponibilidad biofásica (en fármacos con elevada actividad intrínseca puede ser suficiente un 10%), deben poseer unas propiedades fisicoquímicas que les permitan atravesar las barreras fisiológicas, como son los epitelios, membranas celular y nuclear, así como ser estables tanto física como químicamente en fluidos biológicos.

Obviar éstas barreras fisiológicas, bioquímicas y farmacéuticas se ha convertido en el centro de atención de la ciencia de liberación de fármacos al organismo por medio de lo que actualmente se conoce como vectorización de fármacos ya que modificando las características farmacocinéticas y de biodistribución de los principios activos es posible aumentar su eficacia y restringir la toxicidad asociada a su biodistribución en tejidos en los que no interesa que se alcancen determinados niveles de fármaco.

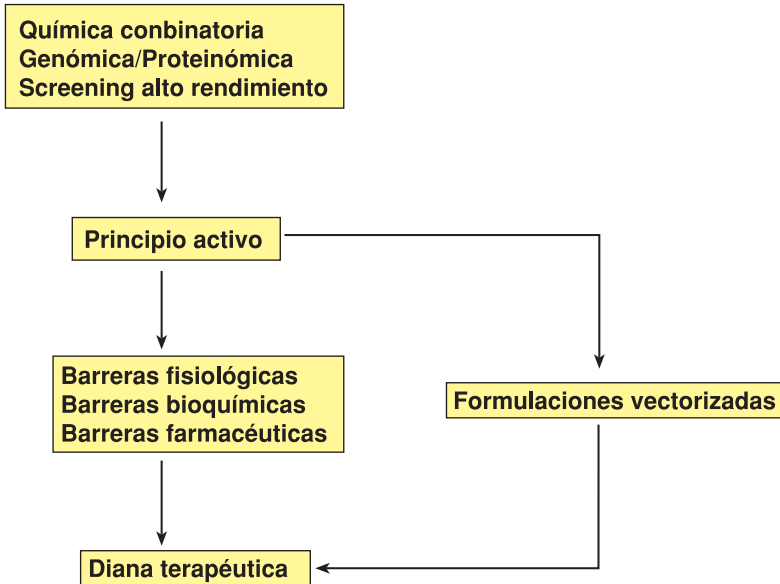


FIGURA 1.1. Esquema de cómo las formulaciones vectorizadas permiten que el principio activo que contienen pueda alcanzar su diana terapéutica obviando las diferentes barreras que se oponen para la obtención de una adecuada biodisponibilidad biofísica.

¿Cómo se hace tradicionalmente para llevar una sustancia activa a su diana terapéutica? Salvo algunas excepciones ésta tarea se adjudica a un transportador como la sangre que tiene los defectos de sus cualidades: va por todas partes por lo que no elige sus destinatarios. La idea de la vectorización pasa entonces, utilizando la sangre como transporte, por incluir el fármaco en unas estructuras que, al alcanzar la diana terapéutica, liberan el fármaco que contienen. Piénsese en la cabeza de un alfiler y luego imaginemos estructuras cien mil veces más pequeñas que son introducidas en el cuerpo humano con el fin de diagnosticar o curar enfermedades. Lo que podría ser el capítulo de una novela fantástica de viajes intracorporales con naves nanoscópicas, ahora se ha convertido en un tema de investigación de importante actualidad gracias a una disciplina que se conoce con el nombre de nanotecnología.

La aplicación de la nanotecnología a las ciencias biomédicas supone unas mejores oportunidades de diagnóstico y unas terapéuticas más efectivas lo que ha llevado a acuñar el término de Nanomedicina cuyo objetivo, según la Plataforma Española de Nanomedicina, sería el desarrollo de aquellas prácticas médicas, incluyendo la prevención, el diagnóstico y la terapia que requieren tec-

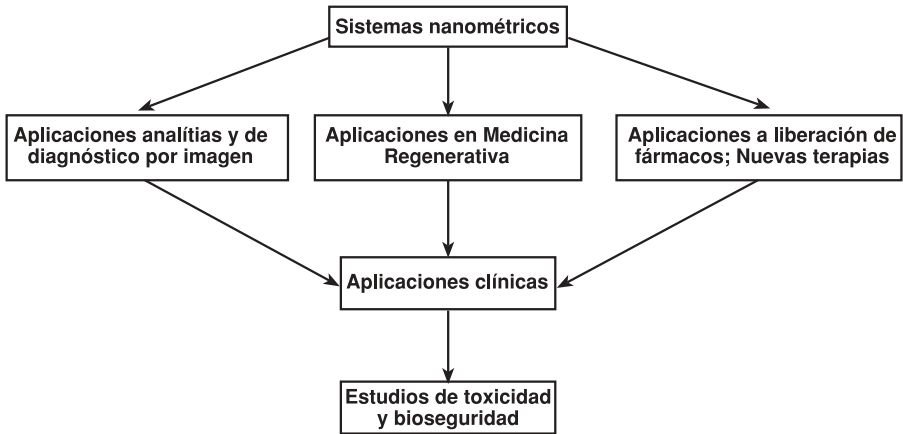


FIGURA 1.2. Áreas de actuación derivadas de la aplicación de los nanosistemas en Biomedicina.

nologías basadas en interacciones entre el cuerpo humano y materiales, estructuras o dispositivos cuyas propiedades se definen a escala nanométrica. En ésta definición se incluye el uso de herramientas analíticas para conocer mejor las bases moleculares de las enfermedades así como el diseño de sistemas nanométricos (de 1 a varios cientos de nanómetros) de liberación de fármacos que permitan terapéuticas más eficaces.

En los últimos años ha tenido lugar un espectacular desarrollo de las nanotecnologías particularmente aplicadas al área biomédica y así el Instituto Nacional de la Salud de EE.UU. estima que para el año 2010 más del 50% de los avances en las ciencias biomédicas corresponderán al sector nanotecnológico; por otra parte algunos autores, tal vez de forma exagerada, llegan a fijar el año 2015 como fecha para que el cáncer sea considerado como una patología crónica.

La Plataforma Europea de Nanomedicina, dependiente de la Fundación Europea para la Ciencia, ha publicado en noviembre de 2006 la Agenda Estratégica de Investigación en Nanomedicina en la que se incluyen las áreas de actuación de la Nanomedicina con el empleo de sistemas nanométricos (Figura 1.2) así como las prioridades, para los próximos años, en diagnóstico, vectorización de fármacos y medicina regenerativa.

La estimación realizada por el Instituto Nacional de la Salud de Estados Unidos, que anteriormente se ha mencionado, se basa en las siguientes previsiones:

INTRODUCCIÓN

- Desde el punto de vista de la industria farmacéutica alcanzar una eficiente liberación del fármaco se considera como una característica esencial del producto y principalmente para las nuevas moléculas biotecnológicas en las que complejas barreras limitan su éxito clínico. Incluso, para los fármacos ya existentes, la industria farmacéutica busca nuevas formulaciones que aumenten el ciclo vital del fármaco mediante unas mejores características o nuevas indicaciones con respecto a las existentes. Esta estrategia de bajo riesgo/ alta rentabilidad centra el problema en la liberación del fármaco ya que los riesgos inherentes a su utilización son conocidos.
- Estudios farmacoeconómicos realizados en ensayos clínicos oncológicos revelan que las nuevas formulaciones nanotecnológicas de antineoplásicos pueden resultar altamente competitivas frente a las clásicas formulaciones. Por ejemplo, con las formulaciones de doxorubicina en liposomas, el coste global del tratamiento es mas bajo al requerirse una menor frecuencia de administración y ser menores las intervenciones para disminuir los efectos secundarios. En general se espera que el uso de sistemas nanotecnológicos será favorable en aquellos casos en que la vectorización del fármaco es crucial para su eficacia y reducir sus efectos secundarios, aspectos especialmente relevantes en la terapéutica oncológica y de las infecciones severas.
- Los éxitos alcanzados por compañías como Sequus Pharmaceutical, Liposome Company y Gilead en la aplicación de los liposomas a la clínica han permitido adquirir en el plano tecnológico un profundo conocimiento de la preparación industrial de liposomas convencionales y estericamente estabilizados así como de su comportamiento in vivo. Ello ha dado lugar a que en la actualidad se encuentren en fase clínica de desarrollo 29 formulaciones de liposomas conteniendo agentes citostáticos, antiinfecciosos y analgésicos. Estas buenas perspectivas se han trasladado también al campo de las nanopartículas poliméricas con la aprobación clínica de una formulación (Abraxane[®]) y otras que se encuentran en diversas fases de desarrollo clínico así como poner de manifiesto que éstos nanosistemas presentan ventajas frente a los liposomas ya que los polímeros son mas económicos que los lípidos y presentan una mayor versatilidad fundamentalmente en el aspecto multifuncional.

La Nanotecnología Farmacéutica, como ciencia de los sistemas nanoparticulares farmacéuticos, cuenta con una larga trayectoria en la preparación y caracterización de vehículos portadores de fármacos si bien ha sido en los últimos

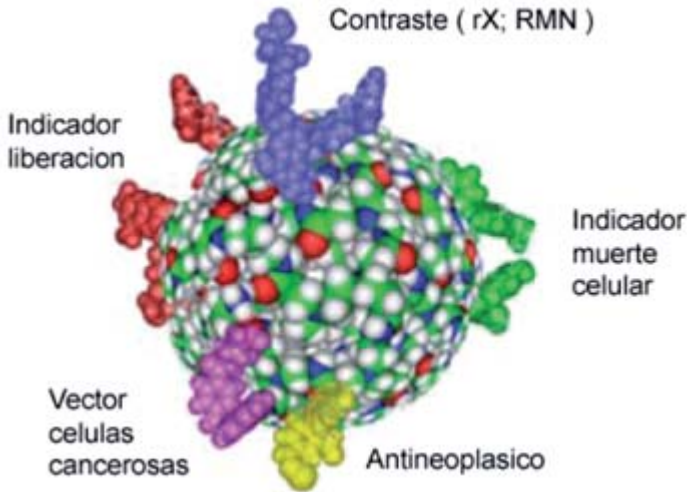


FIGURA 1.3. Esquema de un nanosistema multifuncional capaz de identificar células cancerosas y liberar el citostático.

años cuando se han producido las innovaciones y aplicaciones terapéuticas más interesantes. En la década de los años 1970 se realizaron las primeras administraciones de liposomas y nanopartículas conteniendo diversos fármacos a animales de experimentación pero solo hasta la década de los años 1990 no ha sido posible disponer en clínica de las primeras formulaciones de liposomas conteniendo fármacos antifúngicos.

A lo largo de más de 30 años de intensas investigaciones se han cubierto diferentes etapas que van desde la simple encapsulación del principio activo hasta la obtención de sistemas nanométricos multifuncionales que no solo contienen el principio activo sino también otros elementos que permiten su orientación hacia dianas terapéuticas específicas, visualización del fármaco y seguimiento de su actividad (Figura 1.3).

Un buen ejemplo de éstos sistemas multifuncionales lo constituye el llamado por Kogure y col sistema MEND (multifuncional envelope-type nano device) constituido por una cubierta lipídica sobre la cual se fijan cadenas de PEG, lípidos facilitadores como DOPE, ligandos de vectorización y péptidos fusógenos como octaarginina o estearil arginina.

Si nos ceñimos más concretamente a los sistemas de liberación de principios activos tendríamos que señalar los que se recogen en la Figura 1.4. Den-



FIGURA 1.4. *Diversos nanosistemas que se pueden utilizar actualmente para la liberación de fármacos.*

tro de éstos nanosistemas son los liposomas, nanopartículas, micelas poliméricas, vectores de ADN, conjugados poliméricos y dendrímeros los que se encuadran dentro del campo que constituye lo que actualmente se conoce con el nombre de Nanotecnología Farmacéutica y con los que es posible conseguir algunas de las finalidades siguientes:

- Proteger al fármaco de su degradación, tanto física como química, aspecto esencial cuando se piensa en la utilización de los nuevos principios activos procedentes del área de la biotecnología.
- Incrementar la absorción de fármacos facilitando su difusión a través de los epitelios, aspecto de importancia relevante cuando se trata de buscar alternativas a la administración parenteral de fármacos.
- Modificar las características farmacocinéticas de los fármacos y con ello su perfil de distribución a ciertos tejidos u órganos bien para incrementar su eficacia o disminuir efectos indeseables.
- Incrementar la penetración y distribución intracelular que son necesarias cuando la diana sobre la que va a actuar el fármaco se encuentra en el interior de la célula.
- Mejorar las técnicas de imagen y diagnóstico in vivo.

Si nos referimos a las posibilidades de nuevas terapéuticas también resulta ser enorme la relevancia de la nanomedicina en campos como cáncer, procesos infecciosos, vacunas, trastornos metabólicos, trastornos autoinmunes y rechazo de trasplantes, procesos inflamatorios y dolor.

Cáncer: Se busca fundamentalmente un incremento de la eficacia y disminución de la toxicidad controlando la biodistribución e incrementando la penetración intracelular. Los nanosistemas mas utilizados son nanopartículas, liposomas, y micelas bien como tales o estéricamente estabilizados.

Infecciones: Aumentar la eficacia y disminuir la toxicidad controlando la biodistribución, facilitando la absorción a través de mucosas, mejorando la protección frente a la degradación (especialmente en el caso de péptidos antigénicos) e incrementar la penetración intracelular particularmente a macrófagos, células presentadoras de antígenos, células dendríticas.

Trastornos metabólicos: Prestar una adecuada protección frente a la degradación de péptidos y proteínas, mejorar la absorción a través de mucosas y controlar la liberación para que ésta sea sostenida en el tiempo.

Trastornos autoinmunes: Controlar la biodistribución hacia el sistema inmunitario y/o a células inflamatorias así como conseguir una liberación sostenida.

Tratamiento del dolor: Mejorar la biodisponibilidad del fármaco al sistema nervioso central y conseguir una liberación sostenida.

Terapia génica: Condensar fármacos derivados del ADN, protegerlos de su degradación, mejorar la captación intracelular y dirigirlos hacia los compartimentos citoplasmáticos o nuclear.

Los liposomas, micelas y nanopartículas poliméricas han sido ampliamente estudiados y poseen las características mas adecuadas para la encapsulación de fármacos, genes y agentes de contraste. Al igual que sucede con otros nanosistemas, como los dendrímeros, los mencionados anteriormente pueden ser modificados en su superficie con el fin de conferirles diversas propiedades y funcionalidades, entre las cuales conviene señalar:

- Incrementar el tiempo de permanencia en sangre del nanosistema, y con ello poder conseguir una vectorización pasiva, recurriéndose frecuentemente a recubrir los nanosistemas con PEG de peso molecular 2.000 a 5.000 Da.
- Posibilitar el reconocimiento específico y unión a tejidos o células diana por medio de ligandos específicos como anticuerpos monoclonales, aptámeros, fragmentos Fab, ácido fólico o transferrina.

INTRODUCCIÓN

- Posibilitar la liberación del fármaco en función de determinadas características fisiológicas o patológicas como pH y temperatura; para ello se asocian al nanosistema componentes sensibles a éstas condiciones.
- Posibilitar la penetración en el interior de la célula por medio de los llamados péptidos fusógenos y que el fármaco sea protegido de la degradación lisosomal cuando la diana terapéutica se localiza en el interior de la célula.
- Posibilidad de obtener nanosistemas multifuncionales conteniendo por ejemplo un fármaco y un agente de diagnóstico.

En general los nanosistemas farmacéuticos deben cumplir con las siguientes especificaciones:

- Deben ser biocompatibles y biodegradables, especialmente los destinados a su administración por una vía parenteral.
- Tener un tamaño de partícula nanométrico.
- Poseer una elevada capacidad de incorporación del principio activo.
- Presentar un prolongado tiempo de circulación en el torrente circulatorio.
- Es deseable que el sistema presente una específica o inespecífica capacidad de acumulación en determinados lugares del organismo.

Los liposomas son vesículas artificiales de fosfolípidos con un tamaño comprendido entre 50-500 nm que pueden ser cargados con un elevado número de fármacos hidrosolubles y, en algunos casos, también con fármacos hidrofóbicos al colocarse éstos entre las cadenas fosfolipídicas. Durante más de 20 años los liposomas se han considerado como prometedoros nanovehículos por ser inertes, biocompatibles y prácticamente carentes de reacciones tóxicas y antigénicas así como proteger los principios activos del medio externo. El uso de los liposomas dirigidos, es decir aquellos que se acumulan selectivamente en determinados órganos o tejidos, aumenta la eficacia del fármaco incluido en el liposoma y disminuye la captación de fármaco por parte del sistema reticulo-endotelial. Bajo ésta perspectiva se han desarrollado muchos protocolos de trabajo para fijar vectores, incluyendo anticuerpos, sin que se vea afectada la integridad del liposoma ni las propiedades del anticuerpo; sin embargo la utilización de liposomas puede verse comprometida por su corta semivida en plasma pudiéndose solventar éste problema con el empleo de liposomas recubiertos con cadenas de PEG a las que se fija el anticuerpo.

El desarrollo de nanovehículos para fármacos poco solubles es un aspecto importante por las múltiples implicaciones que se presentan entre las cuales tenemos la baja absorción y biodisponibilidad, agregación en el torrente circulatorio cuando se administran por vía i.v. y, por otra parte, por su carácter lipofílico, pueden atravesar la membrana celular y alcanzar importantes dianas intracelulares. Con objeto de incrementar la hidrosolubilidad de fármacos poco solubles se ha sugerido el empleo de micelas poliméricas con tamaños de 5 a 100 nm así como, utilizando ciertos copolímeros bloque, es posible incrementar la semivida en plasma. Por otra parte, y debido a su pequeño tamaño, presentan el efecto EPR tal como se ha demostrado con micelas conteniendo adriamicina las cuales se acumulan más en tejido tumoral que en tejidos normales. También es posible insertar ligandos específicos que pueden unirse covalentemente al bloque hidrofílico exterior con lo que el fármaco se libera en el tejido específico mientras que la estabilidad de las micelas permiten mantener solubilizado el fármaco con la consiguiente reducción de la toxicidad debida a una menor interacción con los tejidos que no son diana del fármaco.

Las nanopartículas poliméricas por su pequeño tamaño y la posibilidad de funcionalizar su superficie pueden ser orientadas hacia localizaciones o células diana específicas tras su administración por vía i.v. o subcutánea lo que se traduce en una mejora de la imagen en ciertas situaciones patológicas, aumentar la eficacia terapéutica o disminuir los efectos secundarios de los fármacos que contienen. Algunos tipos de nanopartículas han sido modificados para que puedan responder a estímulos ambientales (cambio de pH del medio), estímulos bioquímicos, aplicación de calor o de campos magnéticos rápidamente oscilantes. Estas modificaciones ofrecen la posibilidad de controlar la integridad de la nanopartícula y la velocidad de liberación del principio activo dentro de determinadas estructuras celulares.

El desarrollo de las diferentes tecnologías que se emplean para la preparación de los diversos nanosistemas farmacéuticos no constituyen actualmente el único objetivo de la Nanotecnología Farmacéutica ya que también interesa conocer los factores que como tamaño, carga superficial o hidrofobicidad de la superficie condicionan su cinética de eliminación y biodistribución. La mayor parte (más del 90%) de los nanosistemas inyectados por vía endovenosa son capturados por el sistema reticuloendotelial del hígado y bazo (SER) tras sufrir una opsonización por parte de componentes plasmáticos. Ello representa una excelente oportunidad para dirigir fármacos como antibióticos o antivirales para tratar infecciones intracelulares; en éste sentido las nanopartículas constituyen un adecuado vehículo para fármacos antiparásitos intracelulares como *Leishmania donovani* causante de la leishmaniosis de tal forma que el rápido acla-

ramiento hepático y bazo restringe la acumulación en otros órganos y reduce su toxicidad.

Aunque la captura de nanosistemas por parte del sistema reticuloendotelial representa una circunstancia favorable para algunos fármacos sin embargo para otros, cuya diana no se sitúa a nivel hepático o del bazo, se convierte en una limitación por lo que se han desarrollado procesos mediante los cuales se modifica la hidrofobicidad de la superficie del nanosistema, permitiendo que permanezcan largo tiempo en el torrente circulatorio y conseguir una vectorización efectiva en otros tejidos diferentes del hepático o bazo.

ASPECTOS BIOFARMACÉUTICOS

La Nanotecnología Farmacéutica, como ciencia y tecnología de los sistemas nanoparticulares, presenta cada vez, sin olvidar su fuerte base fisicoquímica, un mayor componente biológico ya que en ella intervienen nuevos aspectos biofarmacéuticos y farmacocinéticos.

El comportamiento biofarmacéutico de los nanosistemas farmacéuticos presenta características específicas y diferentes a la de los principios activos que contienen. Tal como se recoge en la Figura 1.5 las macromoléculas, al ser inyectadas i.v. al organismo, pueden sufrir una degradación por la acción de enzimas específicos o bien, si van en vectores que las protegen, éstos pueden sufrir una agregación o adhesión a componentes plasmáticos. La biodistribución de las macromoléculas depende de la estructura de la pared de los capilares sanguíneos, condiciones fisiológicas o fisiopatológicas de los tejidos, aporte sanguíneo y linfático y propiedades fisicoquímicas del vector.

Las interacciones con biofluidos y el acceso al fluido intersticial constituyen las barreras extracelulares con las que se encuentran los nanosistemas administrados por vía i.v. y que son determinantes para su biodistribución. Una importante limitación de los nanosistemas farmacéuticos es que el organismo los trata como partículas extrañas por lo que son rápidamente opsonizadas y eliminadas del torrente circulatorio antes de que puedan cumplir su función. Por ello una de las propiedades más importantes de todo nanosistema es poseer una elevada semivida plasmática aspecto que sigue siendo fundamental y con desarrollo en la investigación biomédica. Existen diversas razones para conseguir nanosistemas con elevados tiempos de permanencia en la circulación sanguínea siendo una de ellas el poder mantener un adecuado y sostenido nivel de fármaco en plasma ya que ello permite que los nanosistemas o agregados macromo-

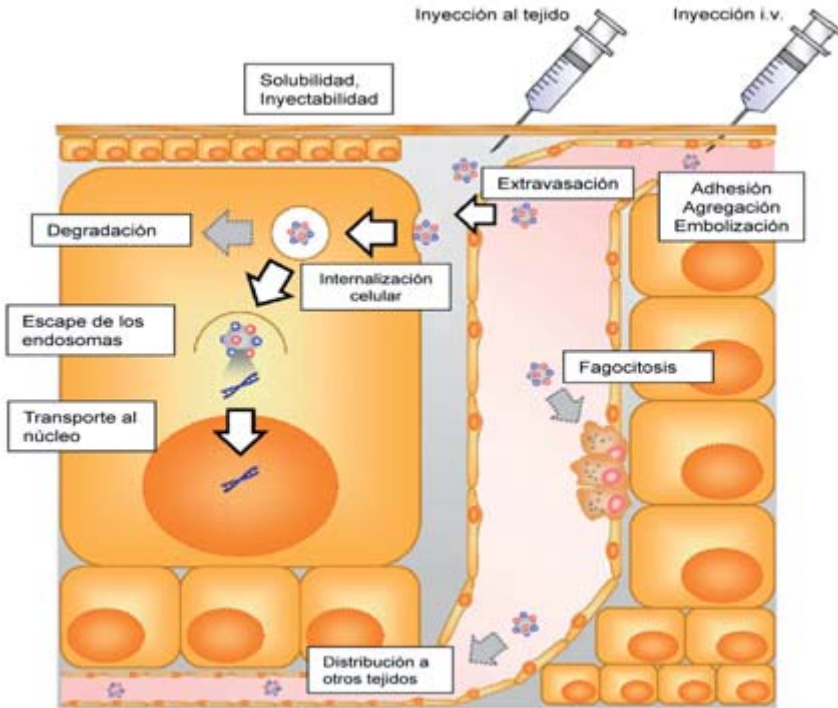


FIGURA 1.5. Problemas biofarmacéuticos asociados a la administración de nanosistemas farmacéuticos.

leculares, fundamentalmente proteínas, se puedan acumular en zonas de elevada permeabilidad vascular y facilitar la liberación del fármaco en estas zonas. Igualmente, los nanosistemas vectorizados con ligandos específicos, tienen mayor tiempo para interactuar con sus dianas terapéuticas específicas al pasar la sangre un mayor número de veces por ellas.

Un aspecto de gran interés para poder administrar los liposomas, y en general de todos los nanosistemas, ha sido el conocimiento de las causas por las que se produce su rápido aclaramiento del torrente circulatorio; aunque aun no está perfectamente conocido parece ser que está relacionado con la interacción que se produce con las lipoproteínas de alta densidad las cuales actúan removiendo las bicapas lipídicas del liposoma lo que facilita la adsorción o inclusión de opsoninas como la fibronectina, α -2 macroglobulina, etc que juegan un importante papel en el reconocimiento de los liposomas y otras partículas por parte de los macrófagos y el SRE (Figura 1.6).

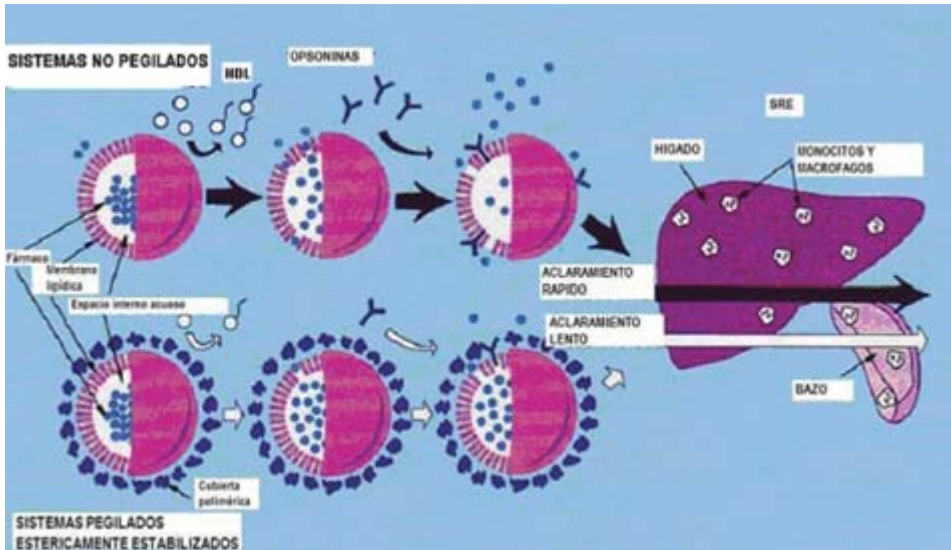


FIGURA 1.6. Aclaramiento de nanosistemas pegilados y no pegilados vía sistema reticuloendotelial (SRE) en hígado y bazo.

La cinética del aclaramiento de los nanosistemas y su biodistribución no solo depende de su hidrofobicidad sino que también intervienen el tamaño y la carga superficial. Precisamente el pequeño tamaño de los liposomas que constituyen la formulación de Ambisome® (< 100 nm) permite que una importante fracción de la dosis inyectada escape del inmediato aclaramiento por parte de los macrófagos del hígado y riñón. Con objeto de conseguir una formulación de anfotericina mas farmacoeconómica que Ambisome® se ha comercializado la especialidad Abelcet® en la cual se ha reducido 3 veces la cantidad de lípidos si bien no puede competir en términos de actividad. Las formulaciones basadas en niosomas, constituidas por surfactantes poliméricos, son más económicas que las de lípidos, biodegradables, no son inmunogénicas y parecen una buena alternativa al igual que nanopartículas de poliepsilon-caprolactona conteniendo anfotericina B las cuales han mostrado una actividad similar a Ambisome® en candidiasis sistémica en ratones neutropénicos.

La natural tendencia de los nanosistemas a ser captados por el sistema reticuloendotelial supone una excelente oportunidad para realizar una vectorización pasiva de fármacos hacia los macrófagos presentes en hígado y bazo y es utilizada para la liberación de antineoplásicos en hepatocarcinomas o metástasis hepáticas procedentes de tumores ginecológicos, broncopulmonares o del

tracto digestivo. Actualmente se encuentra en ensayo clínico una formulación de nanopartículas de isohexilcianoacrilato conteniendo doxorubicina (Transdrug); éstas nanopartículas son rápidamente captadas por el sistema fagocítico mononuclear lo que provoca una elevada adsorción en la superficie celular y un elevado gradiente de doxorubicina que, al incrementarse su difusión intracelular, sobrepasa la capacidad detoxificante del sistema glicoproteína P.

La captura selectiva de los nanosistemas no modificados por parte de células fagocíticas se ha utilizado para la liberación intracelular de antibióticos y antivirales en infecciones intracelulares. Como ejemplo de los primeros fármacos podemos mencionar la formulación de amikacina en liposomas (Mikasome®) que ha mostrado una actividad entre 2 a 6 veces mayor que la amikacina en modelos de tuberculosis en raton pero que ha presentado problemas en los ensayos clínicos. Las nanopartículas constituyen unos sistemas adecuados para contener fármacos antiparasitarios para el tratamiento de la leishmaniasis; así, por ejemplo, nanopartículas de poliisohexilcianoacrilato cargadas con primaquina incrementa 21 veces la actividad del fármaco frente a *L. donovani*; igualmente, utilizando el mismo polímero, la toxicidad de la dehidroemetina se reduce notablemente en el tratamiento de la leishmaniasis visceral.

La modificación de la superficie de los liposomas, micelas poliméricas, niosomas, nanopartículas, etc ha constituido la siguiente etapa en el desarrollo de los nanosistemas farmacéuticos con la finalidad que éstos puedan poseer diferentes propiedades o desarrollar ciertas funciones. A mediados de la década de los años 90 se descubre que el recubrimiento de los liposomas con polímeros hidrofílicos permite obtener los llamados liposomas estéricamente estabilizados que no son reconocidos por los macrófagos ni eliminados por el SRE lo cual permite que su aclaramiento del torrente circulatorio sea lento y su permanencia en el organismo se aumente considerablemente.

Como polímeros protectores los PEG ofrecen una atractiva combinación de propiedades: excelente hidrosolubilidad, elevada flexibilidad de sus cadenas, baja toxicidad e inmonogenicidad, ausencia de acumulación en SRE y mínima influencia sobre las propiedades farmacológicas del fármaco que se incluye en el nanosistema. Los PEG no se metabolizan y los de peso molecular inferior a 40 kDa son excretados por vía renal siendo empleados los de peso molecular comprendido entre 1.000 y 20.000 kDa para el recubrimiento de nanosistemas.

Todas éstas características de los PEG han determinado que en los últimos años haya tenido lugar una importante modificación de sus cadenas para conseguir sistemas con larga semivida plasmática, una vectorización o terapia gé-

nica (como se verá posteriormente). En la Tabla 1.1 se recogen algunas de las modificaciones que se han realizado en las cadenas de PEG de nanosistemas.

A nivel biológico el recubrimiento de nanosistemas con moléculas de PEG impide la interacción con ciertos componentes sanguíneos y reduce la unión de proteínas plasmáticas lo que conlleva una disminución de la fijación de opsoninas y su captura por parte del sistema retículo endotelial. El mecanismo por el cual las cadenas de PEG previenen la opsonización es múltiple y no del todo conocido pero están en juego factores como aumento de la hidrofilia de la superficie del nanosistema, disminución de la carga superficial, aumento de las interacciones repulsivas entre componentes sanguíneos y nanovehículos y que la formación de la capa polimérica sobre la superficie del nanosistema la hace impermeable para macromoléculas como las opsoninas incluso a bajas concentraciones.

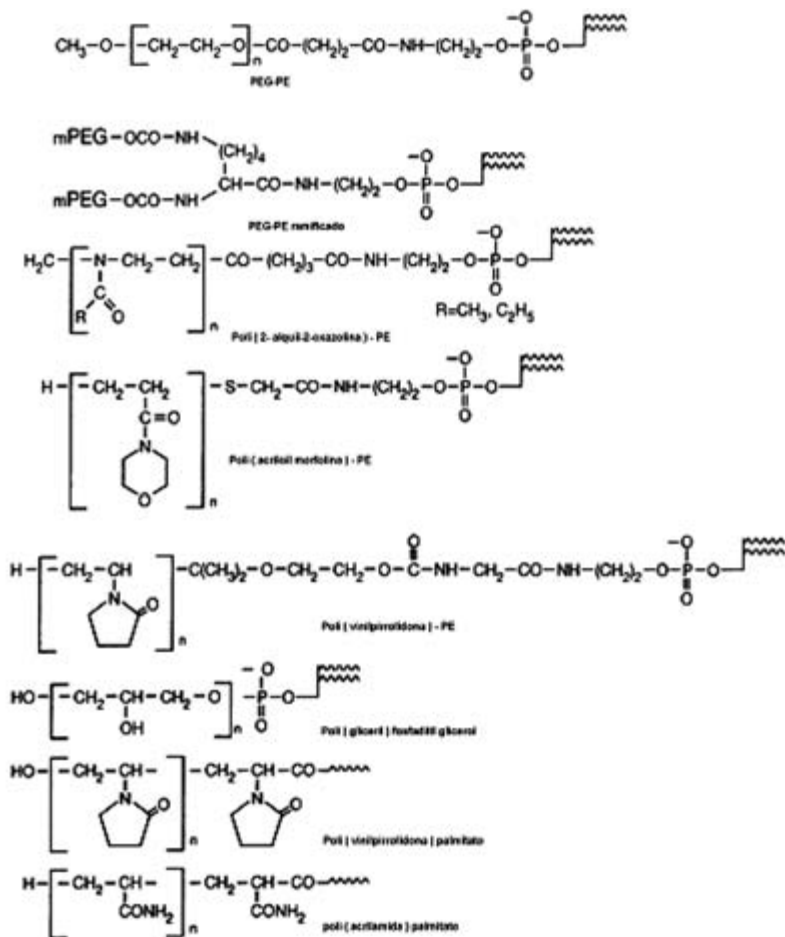
TABLA 1.1. *Ejemplos de modificaciones en las cadenas de PEG en nanosistemas*

<i>Modificaciones</i>	<i>Aplicaciones</i>
Conjugado PEG-poli(ϵ caprolactona)	Nanoencapsulación de fármacos lipofílicos
PEG-Péptido-DOPE	Terapia génica
PEG-gelatina modificada	Terapia génica
Péptidos fusógenos-PEG-PEI	Terapia génica
Folato.PEG-poliaspártico	Micelas pH sensibles
PEG-PLA-copolímeros dibloque anfifílicos	Micelas termosensibles

Las últimas investigaciones acerca del recubrimiento de liposomas con PEG se dirigen hacia la síntesis de derivados de PEG con grupos terminales ácidos o alcohólicos o bien de derivados de PEG que permitan la pérdida del grupo polar y favorezcan la liberación del material encapsulado en determinadas condiciones. En la Tabla 1.2 se recogen algunos de los polímeros que pueden utilizarse para el recubrimiento de liposomas.

Nanopartículas poliméricas pueden ser preparadas usando copolímeros bloque de PEG y de derivados PLGA como bloque hidrofóbico encontrándose en éstos casos que cuanto mayor es el contenido del bloque PEG menor es el aclaramiento y menor fijación al SER. Igualmente sobre nanopartículas de PLGA se pueden adsorber copolímeros de PEG-lisina obteniéndose un largo tiempo de

Tabla 1.2. Estructura de algunos polímeros utilizados para la preparación de liposomas estéricamente estabilizados.



permanencia en el torrente circulatorio. Igual efecto se encuentra cuando se recubren nanopartículas de polialquicianoacrilato o dendrímeros modificados en su superficie con PEG.

Como consecuencia de la estabilización de los nanosistemas los parámetros farmacocinéticos del fármaco incorporado pueden modificarse profundamente; así el clorhidrato de doxorubicina administrado en solución salina presenta una semivida plasmática de 0,8 h y un aclaramiento de 14,4 ml/min-Kg mientras que administrado en forma de liposomas estabilizados (Doxil[®]) los parámetros

INTRODUCCIÓN

son de 54 h y 0,04 ml/min-Kg si bien debe tenerse en cuenta que el parámetro de semivida plasmática no es muy comparable puesto que los valores se han obtenido por métodos diferentes. Igual sucede en el caso del paclitaxel el cual presenta en su formulación con Cremophor EL (Taxol[®]) una semivida de 21,8 h y un aclaramiento de 3,9 ml/min-Kg mientras que en la formulación de complejo polimérico con poliglutamato (Xyotax[®]) los mismos parámetros son de 85 h y 0,09 ml/min-Kg.

Situación diferente se presenta en el caso del paclitaxel en forma de nanopartículas de albúmina (Abraxane[®]) ya que el tiempo de semivida es el mismo que el que presenta el principio activo y el aclaramiento es incluso ligeramente superior (6,5 ml/min-Kg) debido a que las nanopartículas de albúmina se disuelven rápidamente en el torrente circulatorio.

Otros polímeros con los que es posible que los nanosistemas presenten un largo tiempo de permanencia en plasma son: polivinilalcohol, polímeros derivados de polioxazolina, poliglicerol, poli N-vinilpirrolidona, poli [N (2-hidroxipropil) metacrilamida] y poliaminoácidos. En cualquier caso, bien sean los PEG o los polímeros que acabamos de mencionar, no siempre es deseable una estabilización estérica a nivel extravascular ya que el fármaco debe liberarse del nanosistema de forma eficiente para conseguir una adecuada respuesta terapéutica la cual se puede ver comprometida por la presencia de la cubierta estabilizadora. En el caso de fármacos, que fácilmente penetran a través de la membrana celular, la presencia de la cubierta puede retrasar su liberación y limitar su biodisponibilidad terapéutica (Figura 1.7a). En el caso de fármacos que no pasan a través de la membrana su liberación a nivel extracelular no es una opción adecuada y se necesita que el nanosistema pase a través la membrana celular para que el fármaco alcance su diana terapéutica intracelular. En estos casos se puede favorecer la internalización del nanosistema por medio de ligandos de vectorización o interacción electrostática entre la carga positiva del nanosistema y la negativa de la membrana celular; en ambos casos la presencia de membranas estabilizadoras que rodean el sistema pueden no ser favorables para el proceso de internalización (Figura 1.7b y 1.7c).

Un nuevo tipo de polímeros que se han propuesto como estabilizadores de nanosistemas son lípidos del tipo 2 metacrililoiloxietil fosforilcolina (MPC), comercializados con el nombre de Purebright[®] y que se presentan como estructuras biomiméticas de biomembranas. La ventaja que presentan éstos polímeros es que dan lugar a superficies altamente hidratadas (debido al grupo fosfolípido) que prestarían mejor protección que los PEG y derivados para fármacos de naturaleza proteica.

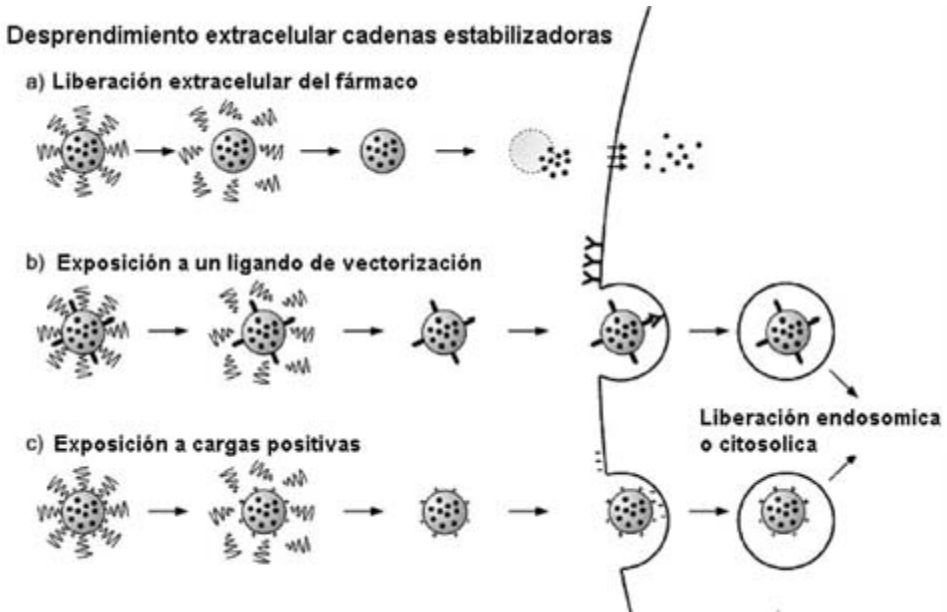


FIGURA 1.7. Representación de diversas situaciones en las que interesa el desprendimiento de membranas estabilizadoras asociadas a nanosistemas.

Desde hace algunos años se conoce que macromoléculas de elevado peso molecular (40 kD o más) y con un largo tiempo de permanencia en sangre así como vehículos farmacéuticos nanoparticulares son capaces de acumularse espontáneamente en diversos tejidos patológicos como tumores sólidos, áreas infartadas o inflamadas a través del llamado efecto de permeabilidad y retención incrementados (EPR effect en la terminología inglesa). Este efecto, descrito inicialmente por Maeda, está basado en que el endotelio de los capilares que se encuentran en éstos tejidos o áreas presentan unas fenestras con diámetros de 200 a 600 nm lo que permite el paso de macromoléculas o sistemas nanoparticulares y su acumulación en el espacio intersticial; a ello se une una disminución de la circulación linfática, responsable del aclaramiento de macromoléculas en tejidos normales (Figura 1.8).

Utilizando diferentes modelos de tumor la importancia del efecto EPR depende del tamaño y tipo de tumor. Los tumores pequeños muestran una mayor permeabilidad y, en consecuencia, una mayor acumulación lo cual resulta ventajoso para erradicar micrometástasis que son difíciles de tratar utilizando una terapia convencional. Por otra parte los tumores altamente vascularizados, como por ejemplo el sarcoma de Kaposi, presentan un mayor efecto de retención. Para

INTRODUCCIÓN

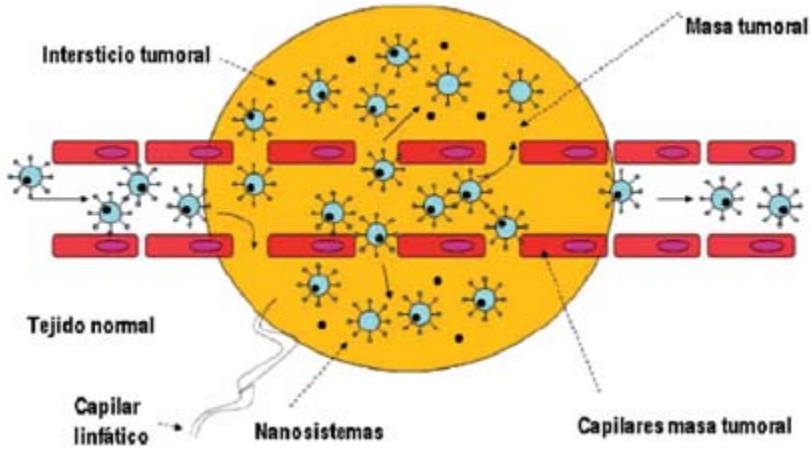


FIGURA 1.8. Esquema del efecto incrementado de permeabilidad y retención (EPR effect).

aquellos tumores poco vascularizados en el exterior y con un rápido crecimiento de la masa tumoral, la inyección intratumoral de los nanosistemas presentan ventajas frente a la administración i.v.

Las interacciones con los biofluidos y el acceso al fluido intersticial constituyen las barreras extracelulares pero muchos fármacos, particularmente los antineoplásicos, tienen sus dianas en el interior de las células tumorales por lo que la liberación intracelular se convierte en la clave para una eficiente respuesta terapéutica y además abre el camino para el desarrollo de la Terapia Génica ya que, como dice Vermer, «solo hay tres problemas en terapia génica: liberación, liberación y liberación».

Tal como se recoge en la Figura 1.9 las dianas terapéuticas celulares pueden situarse a nivel de la membrana, del citoplasma, mitocondria o núcleo celular pero, para que puedan interactuar, es necesario que el fármaco o nanosistema en el que se encuentra pueda atravesar la membrana celular y alcanzar su diana específica intracelular. La escasa penetración intracelular o la degradación lisosomal son las causas de una baja biodisponibilidad biofísica y el fallo de prometedores agentes terapéuticos.

La internalización o paso de los nanosistemas a través de la membrana celular es un complejo proceso de interacciones entre éstos y ciertos componentes de la membrana a través de las cuales se modifican señales celulares con lo que la internalización puede tener lugar por medio de una endocitosis o pinocitosis inespecífica que es concentración y tiempo dependiente así como

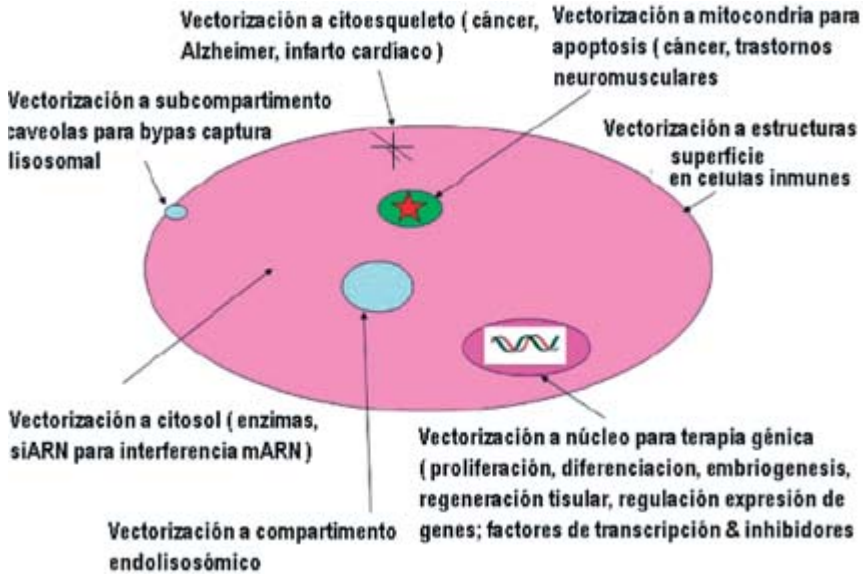


FIGURA 1.9. Vectorización hacia dianas terapéuticas localizadas a nivel celular.

dependiente del tipo de célula o bien endocitosis mediada por receptor. Como consecuencia del primer proceso se forman vesículas en la membrana celular que engloban macromoléculas o partículas presentes en el fluido extracelular. Este proceso puede tener lugar por los siguientes mecanismos: macropinocitosis o endocitosis en fase fluida, endocitosis mediada por clatrina, endocitosis mediada por caveolas y endocitosis por balsas lipídicas (lipid rafts).

La macropinocitosis o endocitosis en fase fluida tiene lugar por invaginación de la membrana celular mediante la cual se forman vesículas de 1 a 5 μm , siendo un mecanismo altamente regulado y controlado por una cascada de señales en las que están presentes la familia Rho GTPasas que, a través de la actina, inducen protusiones que se colapsan y funden con la membrana celular. Este mecanismo de endocitosis presenta una serie de ventajas como son la importante cantidad de macromoléculas y partículas que pueden ser internalizadas y evitar su degradación lisosomal.

La endocitosis mediada por clatrina tiene lugar en los llamados hoyos recubiertos (coated pits) en los que se encuentra la proteína clatrina; en éstos hoyos se produce la invaginación de la membrana formandose endosomas, de 100 a 150 nm de diámetro, recubiertos por clatrina que contienen complejos ligan-

do-receptor. Este mecanismo de endocitosis puede incrementarse mediante el empleo de transferrina que puede reconocer específicamente ciertos receptores de la membrana celular.

La endocitosis mediada por caveolas tiene lugar en caveolas que son invaginaciones de la membrana celular, con un tamaño de 50-60 nm, recubiertas por una proteína especializada llamada caveolina. Las caveolas se localizan en zonas en las que se encuentran numerosos transportadores de membrana. Por el pequeño tamaño de las caveolas determina que sea poco relevante el papel que pueden representar en el proceso de endocitosis si bien en células epiteliales, por representar un 10-20% de la superficie celular, jugarían un papel importante en el paso de proteínas plasmáticas al espacio extravasal.

Para lípidos aniónicos o neutros, liposomas, nanopartículas lipídicas o nanopartículas hidrofóbicas existe otro mecanismo de endocitosis por medio de las llamadas balsas lipídicas (lipid rafts) que son microdominios de la membrana celular ricos en esfingolípidos y colesterol teniendo un tamaño de 40-60 nm de diámetro. Utilizando sistemas poliméricos la endocitosis por balsas lipídicas puede potencializarse en función de la carga del sistema o la presencia de restos hidrofóbicos; la primera promueve una interacción electrostática entre el sistema y la membrana (con carga negativa) o bien una interacción con los lípidos que forman parte de ésta.

Aunque aun no están bien conocidos los mecanismos de internalización de los nanovehículos, se han propuesto los que se recogen en la Tabla 1.3.

Una especial atención se está prestando a la interacción entre las membranas celulares y ciertos lípidos, denominados facilitadores como DOPE (dioleilfosfatidiletanolamina) y péptidos fusógenos como son los derivados del TAT (transactivator of transcription) del virus HIV, los conocidos como GALA o KALA, el péptido de 16 aminoácidos penetratina o la octaarginina. Aunque el mecanismo de penetración de éstos últimos no está bien aclarado es indudable que el conocimiento de éstos procesos constituye un aspecto clave a la hora de diseñar un nanosistema que requiere su internalización celular.

La presencia de lípidos facilitadores como el DOPE o de péptidos fusógenos asociados a nanosistemas determina que estos atraviesen la membrana celular por lo que las cadenas estabilizadoras deben desprenderse en el endosoma para que tenga lugar una adecuada liberación del principio activo al citosol (Figura 1.10).

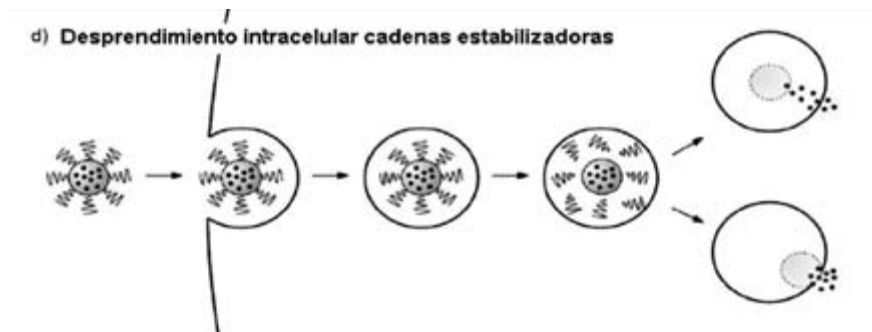


FIGURA 1.10. Desprendimiento de las cadenas estabilizadoras en el interior del endosoma.

TABLA 1.3. Mecanismos propuestos para la internalización de nanovehículos farmacéuticos. PLGA: Copolímeros ácido poliglicólico-poliláctico.; PACA Polialquicianoacrilatos; PEC: Complejos polielectrolitos; CPP: péptidos fusógenos; PAMAM: dendrímeros poliamidoamina.

Nanosistema	Posible mecanismo de internalización
Nanoemulsión	Macropinocitosis o mediada por balsas lipídicas debido a su carácter hidrófobo
Nanopartículas PLGA	Dependiendo de las modificaciones químicas en la periferia del nanosistema: endocitosis en fase fluída o por hoyos de clatrina
Nanopartículas PACA	Endocitosis
Nanopartículas PEC	Endocitosis en fase fluída
Micelas	Endocitosis mediada por hoyos de clatrina
Dendrímeros:	Endocitosis en balsas lipídicas asociada a hoyos de clatrina para dendrímeros PAMAM o endocitosis mediada por receptor para aquéllos con ligandos HER2
Liposomas	Balsas lipídicas
Conjugados poliméricos	Macropinocitosis o endocitosis mediada por receptor para fármacos vectorizados
CPP	Diversos mecanismos de endocitosis más balsas lipídicas
Nanovehículos catiónicos (gen delivery)	Endocitosis en fase fluída
Nanovehículos lipídicos no funcionalizados (gen delivery)	Macropinocitosis o balsas lipídicas para sistemas no funcionalizados o endocitosis mediada por receptor (sistemas funcionalizados)

INTRODUCCIÓN

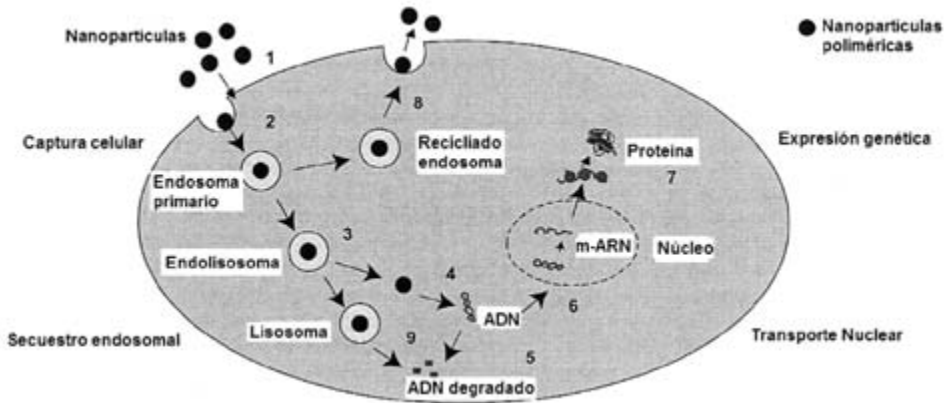


FIGURA 1.11. Representación esquemática de las etapas que tienen lugar durante el tráfico intracelular de fármacos incluidos en nanosistemas.

Una vez que se ha formado el endosoma primario en el interior de la célula (Figura 1.11) éste puede dirigirse hacia la membrana biológica y salir posteriormente al exterior de la célula, por un mecanismo de exocitosis, o bien englobarse con lisosomas, vesículas englobadas por una membrana, que contienen un elevado número de enzimas capaces de inactivar muchas moléculas formándose un endolisosoma. Estos enzimas actúan a pH ácido para lo cual la membrana lisosomal contiene una bomba de protones que permite que el lisosoma tenga un pH inferior a 5 por lo que se debe asegurar la protección de proteínas/plásmidos de la acción de las nucleasas lisosomales. La rotura del endolisosoma permite que el nanosistema libere el principio activo, parte del cual puede degradarse y parte puede alcanzar sus dianas, bien a nivel del citosol o del núcleo.

El transporte intracelular puede realizarse por un mecanismo endosomotrópico o lisosomotrópico. En el primer caso, al producirse la acidificación del endosoma, tiene lugar un cambio en la conformación del polímero que provoca un aumento de la permeabilidad de la membrana endosómica. En el caso del transporte lisosomotrópico, aplicable a algunos polímeros o complejos polímero fármaco, el endosoma se une al lisosoma y por la acción de enzimas lisosomales (cathepsina B) o por descenso del pH se produce la liberación del fármaco (Figura 1.12). El primer mecanismo de transporte es adecuado para fármacos susceptibles de degradación proteolítica, como proteínas o péptidos, mientras que el segundo es adecuado para el tráfico de fármacos estables a pH ácido o a sistemas enzimáticos.

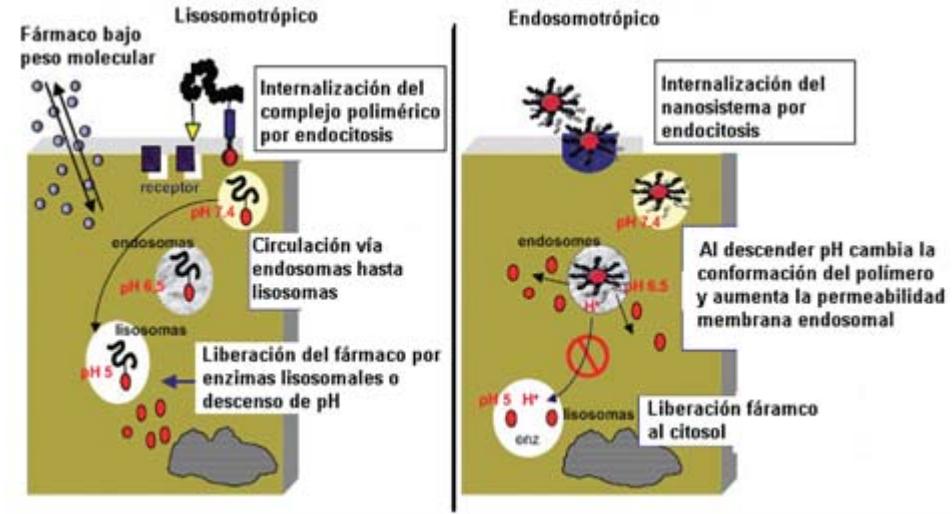


FIGURA 1.12. Esquema de los diferentes mecanismos de tráfico intracelular de nanosistemas.

A principios de los años noventa se comenzó a tener evidencia que la disfunción mitocondrial estaba implicada en un importante número de patologías como trastornos neurodegenerativos y neuromusculares, obesidad, diabetes y problemas de reperfusión isquémica lo que ha dado lugar al término Medicina Mitocondrial como nuevo campo de investigación biomédica que tendría como objetivo la identificación de nuevas dianas terapéuticas a nivel mitocondrial y el desarrollo de sistemas que permitiesen una liberación selectiva de fármacos en éstas dianas. En éste sentido se ha visto que el catión trifenilfosfonio (TPP) presenta propiedades mitocondriótropas y, por tanto, nanosistemas que lo contengan pueden acumular principios activos en éstas estructuras.

Torchilin y col. han diseñado liposomas constituidos por DOPC (1-2 dioleil sn glicero 3 fosfolina), colesterol y esteariltrifenilfosfonio (83,5; 15; 1,5 mol%) así como un fosfolípido fluorescente (rodamina-fosfatidiletanolamina) como trazador.

Muchos de los recientes fármacos, fundamentalmente antineoplásicos, producen su acción sobre efectores genéticos de las células tumorales a través de una acción quelante o reticulación del ADN o bien interfiriendo su replicación, su transcripción o traslación por lo que la vectorización nuclear constituye el factor decisivo en éste tipo de fármacos. El núcleo está rodeado de una doble membrana, constituida por fosfolípidos similares a los de la membrana celular, y presenta poros acuosos 10 veces mayores que los de la membrana plasmática.

ca los cuales permiten el paso de algunas macromoléculas (< 9 nm) solubles como ARN y algunas proteínas. Otras macromoléculas pueden pasar a través de la membrana nuclear por transporte activo por medio del complejo poro nuclear (CPN) constituido por proteínas denominadas porinas, que se caracterizan por la presencia de dominios constituidos por repeticiones múltiples de pequeñas secuencias de fenilalanina-glicina, que se disponen como una estructura anular en la membrana del núcleo, y cuya función está regulada por moléculas que se denominan señales de localización nuclear las cuales contienen aminoácidos catiónicos con restos que pueden ser fosforilados. Cuando estas moléculas, conocidas como importinas, son activadas se asocian con CPN y por medio de la actividad GTPasa (GTP: guanosina trifosfato) el complejo es introducido en el núcleo.

Desde el punto de vista tecnológico tiene interés la utilización, como promotor nuclear, de protamina de bajo peso molecular en base a su similitud con el péptido TAT 1 HIV; es por ello por lo que se realiza la complejación de la protamina con un plásmido ADN antes de proceder a su inclusión en un nanosistema.

Es generalmente aceptado, desde el punto de vista clínico, que es mucho menor la capacidad de transfección global de los vehículos no víricos frente a los víricos. Es por tanto necesario clarificar como y por qué los vehículos no víricos actuales son inferiores a los víricos así como cuantificar la influencia de cada una de las etapas del tráfico intracelular. Harashima y col, utilizando plásmido ADN marcado con rodamina o que codifican la proteína fluorescente, han podido establecer las diferencias existentes (Figura 1.13) cuando se incorporan a Lipofectamina PLUS (LFN) o a un adenovirus. El primer hecho destacado es la superior captación de las partículas de LFN (40%) frente al adenovirus (10%); en segundo lugar el escape de endosomas para ambos vehículos es solo ligeramente superior para el adenovirus y la captación nuclear es unas dos veces superior para el adenovirus. Por tanto, la diferencia en la capacidad de transfección, está ligada a los procesos de transcripción y traslación. El primero de ellos representa una diferencia de 16 veces menor para LFN y que ello se debe a una baja descondensación del plásmido a nivel nuclear mientras que el proceso de traslación se ve fuertemente afectado porque el mARN es una molécula cargada negativamente que interacciona vía electrostática con las partículas de LFN. En conclusión es necesaria una nueva estrategia para controlar la disposición intranuclear y minimizar la interacción citoplasmática entre m-ARN y vectores no víricos.

A la hora de diseñar un nanovehículo para la liberación intracelular de fármacos es importante considerar, desde el punto de vista biofarmacéutico, di-

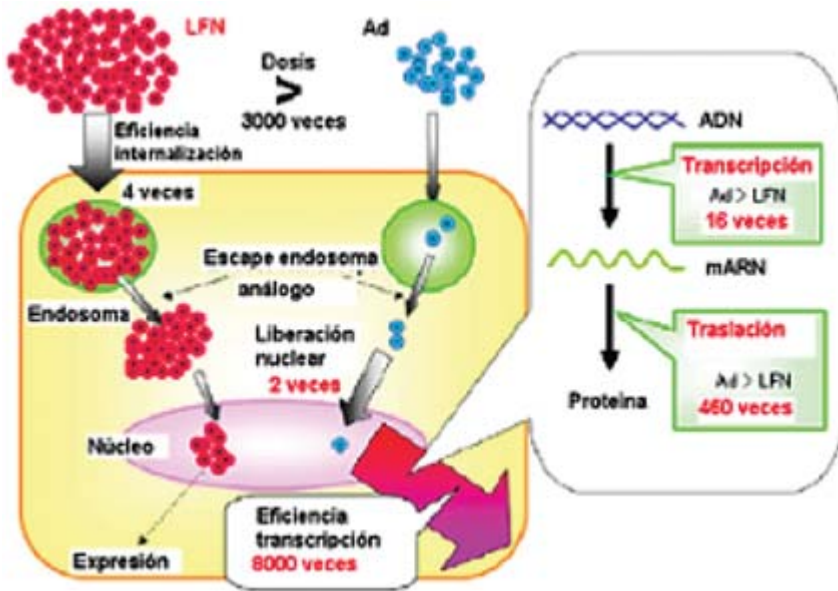


FIGURA 1.13. Influencia de cada de una de las etapas del tráfico intracelular sobre la capacidad de transfección de vehículos víricos y no víricos.

versos aspectos que van desde su liberación extracelular hasta la internalización del nanovehículo. Según Petrak éstos aspectos serían los siguientes:

- Eliminación de la circulación sanguínea: Es un aspecto esencial que el nanovehículo que contiene un principio activo no sea eliminado rápidamente de la circulación ya que ello da lugar a una disminución de la concentración del fármaco en su lugar de acción. Muchos fármacos se unen a componentes plasmáticos (principalmente seroalbúmina) o tisulares lo que condiciona su biodistribución y eliminación. El diseño de un nanovehículo se debe orientar hacia la minimización de las interacciones inespecíficas que se puedan producir con componentes del compartimento sistémico; para ello se utilizan macromoléculas inertes hidrosolubles o bien fijadas (covalentemente o por adsorción) a la superficie del nanovehículo.
- Liberación del principio activo en zonas no deseadas: Dependiendo de la cantidad del vector-fármaco administrado la liberación del principio activo fuera de su lugar de acción puede anular los beneficios que cabría esperar ya que podrían alcanzarse niveles tóxicos en ciertos tejidos o bien ser insuficiente la cantidad liberada a nivel de su lugar de acción.

INTRODUCCIÓN

- Liberación del fármaco en su lugar de acción: Si el fármaco contenido en el nanovehículo se libera lentamente en su lugar de acción puede que no se obtenga una concentración adecuada para poder desarrollar una respuesta terapéutica siendo irrelevante que la cantidad total de fármaco liberado en el lugar de acción sea suficiente por lo que se debe asegurar que la velocidad de liberación del fármaco sea suficiente para que éste se acumule en su lugar de acción.
- Muchos fármacos tienen su diana terapéutica a nivel intracelular y no poseen propiedades fisicoquímicas adecuadas para su paso a través de la membrana celular. En éstos casos el nanovehículo debe ser capaz de transportar el fármaco al interior de la célula y liberarlo en la diana terapéutica adecuada.

Los nanosistemas farmacéuticos se pueden administrar por todas las vías tanto locales como sistémicas permitiendo controlar la liberación y biodistribución del fármaco, mejorar su absorción a través de epitelios o células y protegerlo de su degradación. Sin embargo, hasta el momento actual, aun no existe un nanosistema farmacéutico universal adecuado para la liberación de cualquier fármaco si bien, para nanovehículos administrados por vía i.v., se considera que deben tener un tamaño inferior a los 100 nm. poseer carga superficial negativa y no ser reconocidos por el SER.

Para los próximos años cabe esperar grandes avances en el conocimiento de la biología celular y molecular así como de los trastornos biológicos asociados a las diversas patologías que permitan identificar de forma precisa nuevas dianas terapéuticas y entrar de lleno en la era de la terapia génica.

Se precisa, en primer lugar, un mejor conocimiento de los procesos de internalización de fármacos y nanosistemas ya que estudios recientes, en los que se emplean técnicas como microscopía de fluorescencia y FACS (fluorescence activated cell sorter), revelan la existencia de diferentes mecanismos de internalización para un mismo nanovehículo pero es poco conocida la contribución relativa de cada uno; igualmente no están perfectamente clarificadas la influencia de las propiedades macromoleculares de los nanovectores, su tamaño y carga, presencia de agentes de internalización o de las propiedades fisicoquímicas del principio activo contenido en el nanosistema. El conocimiento de todos éstos aspectos contribuirá a un diseño más racional de nanosistemas para diferentes tipos de células.

El tráfico de vesículas y organelas está regulado por motores moleculares y las proteínas Rab (proteínas de membrana que se unen a GTP) constituyendo la clave de los procesos de endocitosis, exocitosis, transporte vesicular y fusión

de los endosomas; un conocimiento mas profundo de ellos permitirá una mayor eficiencia del tráfico intracelular y una vectorización hacia determinadas estructuras intracelulares.

Los aspectos mas importantes del futuro desarrollo de nanovehículos son los referentes a su decoración con ligandos de internalización que permitan una mayor eficiencia en la vectorización del fármaco hacia su diana terapéutica; ello supone que una modificación en la biodistribución tisular tiene una importancia relativa ya que mejoras en su tráfico intracelular pueden tener implicaciones muy importantes sobre la eficacia del fármaco en su lugar de acción.

Los nanovehículos biomiméticos están siendo objeto de especial atención como posibles nuevas formas de dosificación por sus potenciales aplicaciones en la vectorización de fármacos y terapia génica. De todos ellos destacan los polímeros péptidomiméticos anfífilicos como por ejemplo ácido poliaspártico-PEG (desarrollados por NanoCarrier Co. Ltd, Japón) que están siendo empleados en el desarrollo de formulaciones micelares conteniendo citostáticos.

CONCLUSIÓN

Aunque la introducción de la nanotecnología ha supuesto un enorme avance en la consecución de la «bala mágica» propuesta por Ehrlich sin embargo aun quedan muchos problemas por resolver. Los siguientes avances provendrán de la introducción de nuevos materiales especialmente polímeros respondedores a estímulos a través de los cuales se puedan orientar hacia la diana terapéutica y liberar el fármaco de acuerdo con las finalidades terapéuticas deseadas.

Hoy día la nanotecnología farmacéutica, la última transformación profunda que ha sufrido la tecnología farmacéutica, aun siendo una ciencia típicamente farmacéutica por su contenido y su finalidad, sin embargo trabajan en ella investigadores de muy diversas áreas: bioquímicos, físicos, químicos de polímeros, etc. ya que, como dice Hermann Mark, *la confluencia de la ciencia de los polímeros con la medicina es una zona fronteriza donde convergen diferentes lenguajes y más allá de la cual solo puede avanzar un equipo interdisciplinar bien coordinado*. Por tanto ello no supone una merma o intromisión en nuestra actividad profesional porque para mí el galénico sigue teniendo como misión resolver un problema terapéutico utilizando los conocimientos que le proporcionan la biofarmacia y la tecnología farmacéutica y por ello se debe considerar al tecnólogo farmacéutico como el interlocutor y coordinador más caracterizado entre el clínico (que expone el problema terapéutico) y el equipo

interdisciplinar que trata de resolverlo. La validez de ésta actuación va a depender, por tanto, no solo de la formación galénica que posea sino también de las ciencias básicas que la sustentan, las cuales deben adaptarse a las rápidas exigencias que requieren actualmente los tratamientos farmacoterapéuticos.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Prokop, A. & Davidson, J.M. (2008) Nanovehicular intracelular delivery Systems. *J. Pharm. Sci.* 97 (9): 3518-359.
- (2) Cancer Nanotechnology Plan: A strategic initiative to transform clinical oncology and basic research through the direct application of Nanotechnology: U.S. Department of Health and Human Services. National Institutes of Health. Health National Cancer Institute (2004).
- (3) European Technology Platform: Nanomedicine. Cordis.europe. eu/nanotechnology/nanomedicine.htm.
- (4) European Medicines Agency (2006) Reflection paper on nanotechnology-based medicinal products for human use.
- (5) Domb, A.J., Tabata, Y., Ravi Kumar, M.N.V. & Farber, S. (2007) Nanoparticles for pharmaceutical applications. Ed.: American Scientific Publishers. Los Angeles.
- (6) Couvreur P. & Vauthier, C. (2006) Nanotechnology: Intelligent design to treat complex disease. *Pharm. Res.* 23: 1417-1450.
- (7) Farokhzad, O.C. & Langer, R. (2006) Nanomedicine: developing smarter therapeutic and diagnostic modalities. *Adv. Drug Del. Rev.* 58: 1456-1459.
- (8) Boddapati, S.V., D'Souza, G.G.M., Erdogan, S., Torchilin, V.P. & Weisseg, V. (2008) Organelle-Targeted Nanocarriers: Specific delivery of liposomal ceramide to mitochondria enhances its cytotoxicity in vitro and in vivo. *Nanoletters.* 8: 2559-2563.
- (9) Kogure, K., Akita, H., Yamada, Y. & Harashima, H. (2008) Multifunctional envelope-type nano device (MEND) as a non-viral gene delivery system. *Ad. Drug Deliv. Rev.* 60: 559-571.
- (10) Petrak, K. (2005) Essential perspectives of drug targeting delivery Systems. *Drug Discov. Today.* 10: 1667-1673.
- (11) Shyh-Dar, L. & Huang, L. (2008) Pharmacokinetics and biodistribution of nanoparticles. *Molecular Pharmaceutics.* 4: 496-504.