



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**Nanotecnología farmacéutica: Uso de nanopartículas en formulaciones
líquidas de administración enteral y parenteral**

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

Que para obtener el título de

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

Sofía Montserrat Medina Jiménez

DIRECTOR DE TESIS

Q. Benjamín Ruíz Loyola



Ciudad Universitaria, CD. MX., 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor:** **BENJAMIN RUIZ LOYOLA**

VOCAL: **Profesor:** **JOSE MANUEL MENDEZ STIVALET**

SECRETARIO: **Profesor:** **MARIA DEL SOCORRO ALPIZAR RAMOS**

1er. SUPLENTE: **Profesor:** **ENRIQUE AMADOR GONZALEZ**

2° SUPLENTE: **Profesor:** **VERONICA ZAMORA SALAZAR**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., 2018

ASESOR DEL TEMA:

BENJAMIN RUIZ LOYOLA

SUSTENTANTE:

SOFIA MONTSERRAT MEDINA JIMENEZ

ÍNDICE

Índice.....	3
1. Objetivos.....	4
2. Resumen.....	4
3. Antecedentes.....	6
4. Introducción.....	8
4.1 Micropartículas.....	11
5. Generalidades.....	14
6. Clasificación de la Nanotecnología.....	22
7. Nanomedicina en el ámbito socioeconómico.....	23
8. ¿Por qué en la escala nanométrica?.....	27
9. Nanopartículas. Características generales y particulares. Sistemas nanotecnológicos de entrega de fármacos.....	29
10.0 Tipos de nanopartículas para formulaciones farmacéuticas.....	47
10.1 Nanopartículas lipídicas sólidas.....	47
10.2 Nanosuspensiones.....	55
10.3 Nanopartículas a base de polisacáridos: Quitosano.....	60
10.4 Nanopartículas de oro.....	74
10.5 Nanotubos de carbono.....	87
11.0 Excipientes y su funcionalidad	91
12.0 Biopolímeros como materiales en aplicaciones farmacéuticas.....	108
13.0 Aspectos sanitarios de la nanotecnología.....	126
14.0 Posición actual: Casos, Terapia y mejoramiento humano.....	129
15.0 Recomendaciones.....	159
16.0 Análisis.....	161
17.0 Conclusiones.....	165
18.0 Bibliografía.....	166

1. OBJETIVOS

Sustentar por qué la nanotecnología farmacéutica tiene un papel importante en el diseño de transportadores para la orientación de sistemas de suministro de fármacos, el uso de nanopartículas farmacéuticas tiene como objetivo orientar, proteger, vectorizar, direccionar, suministrar de forma selectiva, segura y eficaz a fármacos para que logren ejercer su efecto terapéutico en el sitio deseado reduciendo así efectos adversos, dosis suministrada, número de dosis, así como lograr una liberación sostenida y prolongada del fármaco en la diana terapéutica.

2. RESUMEN

El desarrollo científico y tecnológico tendiente a aumentar la efectividad de los medicamentos ha conducido a nuevos diseños en la tecnología del suministro o de los sistemas de administración de sustancias activas. La orientación o direccionamiento en los sistemas de suministro de fármacos involucra la localización efectiva y selectiva de las sustancias terapéuticas en lugares preseleccionados, en concentraciones que maximicen su efectividad. Esto debe lograrse restringiendo el acceso de estas sustancias a las áreas no seleccionadas para su efecto. Para este fin, se considera que el transportador sea uno de los factores más importantes para tener éxito en el traslado y localización del fármaco.

La nanotecnología es el diseño, desarrollo y caracterización de productos con alguna dimensión o componente en el rango nanométrico, que le confiera una propiedad diferencial. Las nanopartículas farmacéuticas son sistemas biocompatibles, capaces de transportar y entregar sustancias terapéuticamente activas (drug delivery), en forma específica, hasta el sitio donde deben ejercer su acción. Las nanopartículas pueden imitar o modificar procesos biológicos y pueden brindar soluciones a viejos problemas asociados con la solubilidad, biodisponibilidad, inmunocompatibilidad y citotoxicidad de muchos de los medicamentos de uso tradicional.

Las ventajas del uso de nanopartículas para la administración de fármacos están dadas, principalmente, por su pequeño tamaño y el empleo de materiales biodegradables. Debido a su tamaño, las nanopartículas pueden atravesar los sitios de inflamación del endotelio, el epitelio (por ejemplo, el tracto intestinal, el hígado y otros), tumores o penetrar microcapilares.

Una consecuencia directa de un aumento en la biodisponibilidad es que la dosis a administrar es menor que en la forma convencional. El tamaño nanométrico presenta ventajas en la administración parenteral de los fármacos, como en el caso particular de la aplicación de nanomedicinas en oncología.

El uso de la nanotecnología en la industria farmacéutica tiene entre sus objetivos prolongar y mejorar la calidad de vida, proporcionando sistemas de liberación de fármacos más óptimos que cumplan con la propiedad que se le atribuye y reduzca los efectos adversos. Esto conllevaría a identificar los posibles daños y riesgos sanitarios del uso de nanopartículas en formulaciones farmacéuticas, para contrarrestar o prevenir dichos daños.

Considerando que los sistemas biológicos interactúan con su medio ambiente a través de moléculas y estructuras multimoleculares que operan en la nanoescala, es fácil comprender porque la nanotecnología tiene tanto potencial en el área de la salud, en los productos farmacéuticos y en la biotecnología. Una gran parte de la “maquinaria” superficial de las células y de los organelos intracelulares operan al nivel de nanómetros.

La implementación de la nanotecnología farmacéutica ayudará en el cuidado de la salud prolongando y mejorando la calidad de vida; en la industria farmacéutica la producción dependerá de la nanotecnología.

El uso de nanopartículas farmacéuticas en formulaciones ayudará a una mayor eficacia del efecto farmacológico, ya que protegen y transportan al principio activo hasta su sitio de acción, por lo que se reduciría el número de dosificaciones y efectos tóxicos o colaterales que se padecen con sistemas de liberación de fármacos convencionales.

Así como se busca obtener múltiples beneficios del uso de nanopartículas farmacéuticas y se invierte en el desarrollo, investigación e innovación, también se debe invertir en una investigación detallada de efectos adversos, toxicología, así como profundizar en cuestiones éticas.

3. ANTECEDENTES

Históricamente, el primer científico que se planteó como desafío controlar la biodistribución de un fármaco fue el alemán Paul Ehrlich, a principios del siglo pasado. Su objetivo era desarrollar un medicamento que fuera efectivo contra la sífilis y tuviera además especificidad tisular, es decir que no afectara otros órganos sanos. De esta manera, introdujo el concepto de la “bala mágica” (magicbullet), una medicina direccionada al sitio de acción. A pesar de que no pudo evitar los severos efectos colaterales de su Salvarsan, sentó un precedente importante en el desarrollo de los sistemas terapéuticos.¹

El ideal de la “bala mágica” pareció materializarse con la aparición de herramientas nanotecnológicas para la obtención y caracterización de sistemas biocompatibles en el rango nanométrico. Esta combinación permitió, en la década de los 70, el desarrollo de las primeras nanomedicinas, como las nanopartículas descritas por Peter Speiser del Instituto Tecnológico de Zurich, Suiza, o los liposomas obtenidos por Gregoriadis, investigador del Colegio de Farmacia de Londres, Inglaterra.¹

La idea de utilizar estructuras atómicas construyendo átomos sobre átomos comenzó con el Dr. Richard Feynman en el año de 1952, cuando anticipó conceptos que hoy son realidad en las actividades nanotecnológicas.²

El nombre Nanotecnología fue atribuido en el año de 1974 por el Prof. Norio Taniguchi de la Universidad de Ciencias de Tokio, en un artículo publicado con el siguiente título: “Nanotecnología consiste en el procedimiento de separación, consolidación y deformación de materiales átomo por átomo o molécula por

molécula”. Durante ese año de 1974 la nanotecnología comenzó a crecer con fuerza y condujo a los científicos más optimistas a trabajar con empeño en distintos temas. La idea de que en algún sentido se podría tocar los átomos y las moléculas, surgió en la década de los 80, cuando estudiosos apoyados por la teoría propuesta por el Dr. K. Eric Drexler, consiguieron manipular los átomos y las moléculas. Esto causó una gran controversia de opiniones en la época y dio motivos para que la justicia interviniera por el temor de que fuera usado con intenciones bélicas o ilícitas.³

Ya en los primeros años de la década de los 80 hubo una evolución significativa en la nanociencia. Los principales laboratorios del mundo, tales como el de IBM, Bell, MIT, desarrollaron medios para visualizar y manipular los átomos y moléculas.⁴

En 1985 los profesores Kroto y Smalley, cuando estaban realizando experimentos en los que se trataba de convertir carbono gaseoso en partículas (hollín), fenómeno que se produce en las estrellas, encontraron unas nuevas estructuras estables de las cuales la más abundante fue una molécula de fórmula C_{60} (Carbono sesenta), la cual constituye una nueva forma de carbono. La estructura del C_{60} es similar a la de una pelota de fútbol (de ahí el nombre de futbolanos o *buckybolas* como también se les conoce). En general, se conoce con el término de *fullerenos* (en honor del arquitecto Buckminster Fuller).⁵

La importancia del descubrimiento de estos tipos de moléculas, abrieron ya en el final de los años 80, un nuevo campo de posibles aplicaciones en la elaboración de nuevos tipos de polímeros, superconductores, estructuras con metales o con otros átomos atrapados dentro de estos agrupamientos de carbono, así como nuevos catalizadores, productos farmacéuticos y otras posibles aplicaciones industriales.⁶

4. INTRODUCCIÓN

La inmunoterapia para el tratamiento de enfermedades alérgicas implica ciertas desventajas, que pueden ser reducidas si se emplean adyuvantes adecuados,

que sean capaces de amplificar la respuesta inmune con un efecto alérgico mínimo. En ese contexto, las formas farmacéuticas más prometedoras para aumentar la eficacia y seguridad de la inmunoterapia, parecen ser las micro y nanopartículas, de polímeros biodegradables y liposomas.

Las enfermedades alérgicas son una patología emergente. La eficacia de la inmunoterapia ha sido demostrada científicamente en numerosos ensayos doble ciego controlados con placebo, y así lo demuestran los últimos meta análisis.⁷

En este contexto, cada vez están tomando más importancia los adyuvantes⁸ que permitan la presentación del alérgeno a las células presentadoras de antígeno, desencadenando una respuesta innata que ponga en marcha una señal celular moduladora de la respuesta de hipersensibilidad que origine tolerancia y además sea segura. En muchos casos el mecanismo por el cual un adyuvante es capaz de aumentar o modular la inmunogenicidad de un alérgeno o de un antígeno se desconoce.⁹

Por otra parte, a pesar de la larga lista de compuestos que han sido propuestos como adyuvantes, a fecha de hoy solamente las sales de aluminio y la emulsión MF59 están aceptados para su uso en humanos.¹⁰ Las sales de aluminio (el adyuvante más utilizado hoy en día) son capaces de inducir razonables respuestas humorales (Th2), pero no producen respuestas celulares (Th1). La inmunidad Th1 es esencial para la protección frente a numerosos organismos infecciosos (parásitos intracelulares) y para limitar procesos alérgicos. Además, hay que tener en cuenta que las sales de aluminio presentan limitaciones en cuanto a su aplicación en vacunas basadas en péptidos o fracciones de ADN.^{11,12}

En la actualidad, un gran número de compuestos diferentes están siendo estudiados como potenciales adyuvantes. Entre éstos se encuentran las nuevas formas farmacéuticas para vehiculización de moléculas biológicamente activas.¹³

Hoy en día está establecido de forma fehaciente que los adyuvantes pueden aumentar la respuesta inmune específica de los antígenos/alergenos mediante dos mecanismos principales:¹⁴

- (i) aumentando la captura del alérgeno por las células presentadoras de antígeno (CPAs). Estos adyuvantes son directamente capturados y fagocitados por las CPAs o bien forman un depósito en el lugar de administración o de absorción que prolonga su exposición y, por lo tanto, su captura por las CPAs. En este grupo se incluyen las sales de aluminio, las emulsiones, los derivados de saponinas y las nuevas formas farmacéuticas (liposomas, nanopartículas y micropartículas);¹⁵
- (ii) activando directamente las células del sistema inmune innato. A esta categoría pertenecen los estímulos inflamatorios como las citoquinas, los CD40L y los PAMPs (moléculas modelo asociadas a patógenos). Entre estos últimos se incluyen lipopolisacárido, mureína, flagelina, secuencias CpGs9.

Otra ventaja de algunas de las nuevas formas farmacéuticas, como ciertos tipos de nanopartículas, es que representan una buena estrategia para la administración segura y eficaz de alérgenos por vías a través de mucosas (incluida la vía oral). Además, durante los últimos años, ha aumentado el interés por las vías locales no inyectables buscando mejorar la seguridad y eficacia del tratamiento, y la aceptación del mismo por parte del paciente. La vía que ha demostrado eficacia y seguridad ha sido la vía sublingual para el tratamiento de rinitis y conjuntivitis.¹⁶ Asimismo, la inmunoterapia sublingual frente a alimentos está en fase importante de desarrollo obteniéndose resultados prometedores.¹⁷

Otra vía interesante por su gran aceptación por parte de los pacientes es la vía oral. Para esta vía de administración la inducción de respuestas desensibilizantes o bloqueantes de reacciones alérgicas está asociado a (i) la protección del alérgeno frente a su degradación prematura y (ii) al desarrollo de interacciones bioadhesivas, entre la superficie de estos vehículos y la mucosa, que permitan incrementar el tiempo de residencia en esta zona.¹⁷

En ese contexto, las nuevas formas farmacéuticas más prometedoras como adyuvantes parecen ser las micro y nanopartículas de polímeros biodegradables y ciertos tipos de liposomas que permiten diseñar una terapéutica más racional y mejor adaptada, al aumentar la eficacia y especificidad de la molécula biológicamente activa que incorporan. Todas estas formas farmacéuticas, también llamadas vehículos o transportadores, tienen capacidad de ser captadas eficientemente por las células presentadoras de antígeno.¹⁷

Desde un punto de vista general, se puede afirmar que estos vehículos o transportadores de moléculas biológicamente activas aportan las siguientes ventajas:

1. Proteger el material que incorporan frente a su inactivación química, enzimática o inmunológica.
2. Mejorar el transporte de la molécula biológicamente activa hasta lugares difíciles de alcanzar y de su penetración en la célula.
3. Aumentar la especificidad de acción por concentración selectiva, eficaz y regular del fármaco en el blanco celular y/o molecular. Así, con dosis más pequeñas, la actividad terapéutica obtenida es, al menos, idéntica y los efectos secundarios menores.
4. Disminuir la toxicidad para ciertos órganos mediante modificación de la distribución tisular de la molécula biológicamente activa transportada.
5. Prolongar el tiempo de residencia de la molécula activa en el organismo (interesante para aquellas moléculas con aclaramiento elevado y semivida biológica baja) y, control de su liberación.

Todo ello implica disminuir la frecuencia de tomas e, indirectamente, aumentar la observancia del tratamiento por parte del paciente.¹⁷

4. 1 Micropartículas

Las micropartículas son elementos con dimensiones micrométricas (generalmente, de 3 a 800 μm) que se clasifican, en función de su estructura, en microcápsulas y microesferas.¹⁸

Las microcápsulas son sistemas tipo reservorio, constituidas por un núcleo central (reservorio) rodeado de un revestimiento continuo o membrana. Además, según su constitución, se distinguen microcápsulas mononucleares y polinucleares; éstas últimas poseen formas más irregulares, y están formadas habitualmente por una dispersión de pequeñas partículas de fármaco incluidas en una matriz polimérica que conforma la pared.¹⁸

El núcleo puede ser sólido o líquido, en suspensión o solución. La membrana está constituida generalmente por un polímero que debe reunir ciertos requisitos: presenta elevada cohesividad con el núcleo, con el cual debe ser compatible; es resistente, flexible, impermeable y estable. Además, se suele añadir a la formulación otras sustancias que modifica sus propiedades (colorantes, edulcorantes, diluyentes, plastificantes), así como otras más específicas, con el fin de obtener sistemas de liberación controlada.¹⁸

A diferencia de las microcápsulas, las microesferas no muestran una distinción neta entre las estructuras interna y externa. Están constituidas por una matriz polimérica o lipídica en la cual se encuentra el principio activo, disuelto o finamente disperso. En general, son más fáciles de preparar que las microcápsulas y ofrecen una mayor seguridad de uso, ya que no presentan el riesgo asociado a las fracturas accidentales o recubrimiento incompleto de la membrana. Si esto ocurriera, no se garantizaría la protección total del principio activo, ni se mantendrían las características de liberación del fármaco encapsulado.¹⁸

Existen numerosas sustancias que pueden utilizarse en la elaboración de las micropartículas: proteínas (albúmina, gelatina, colágeno, caseína), polisacáridos (almidón, celulosa y derivados, alginatos, pectina, carragenanos, quitosanos), poliésteres (ácido poliláctico, ácido poliglucólico, ácido poliláctogluconico, poli- ϵ -

caprolactona, poli- β -hidroxibutirato), derivados polivinílicos (alcohol vinílico, acetato de vinilo), poliacrilatos (acrilatos, metacrilatos, copolímeros del ácido acrílico y metacrílico), y otros varios (glicéridos, ceras, ésteres sólidos, etc.). Su selección viene determinada por el método de preparación, las características fisicoquímicas del fármaco y la aplicación que se pretenda conseguir.¹⁸

La elaboración de éstos sistemas es compleja y en muchos casos dificulta su fabricación a gran escala. Además, los procedimientos convencionales emplean grandes cantidades de disolventes orgánicos. Las estrictas legislaciones actuales en cuanto al uso de estos disolventes, tanto por razones medio ambientales como de protección al consumidor, han promovido la investigación de nuevas tecnologías que eviten o reduzcan su uso. Entre ellas, ha emergido la tecnología de fluidos supercríticos, basada en la utilización de un fluido supercrítico como disolvente alternativo, siendo el más utilizado el dióxido de carbono supercrítico.¹⁸

Las micropartículas se emplean en multitud de aplicaciones en numerosos campos de la ciencia y además forman parte de elementos de uso cotidiano. En el ámbito farmacéutico, se utilizan para proteger el fármaco del medio externo (luz, oxígeno, humedad), reducir la volatilidad de ciertos compuestos, evitar problemas de incompatibilidad, enmascarar características organolépticas desagradables, aminorar los problemas de irritación gastrointestinal, etc. En realidad, estos sistemas de administración se utilizan tanto para controlar la liberación como para favorecer la vectorización.¹⁸ A continuación se describen aplicaciones interesantes y novedosas:

- Control de la liberación. Es una de las funciones más interesantes de estos sistemas; un ejemplo clásico lo constituye la administración parenteral de triptorelina, decapeptido comercializado bajo la forma de microesferas (Decapeptyl LP) para el tratamiento del cáncer de próstata. También se han incorporado bajo la forma de micropartículas para uso parenteral de bromocriptina, algunos antitumorales, antibióticos y vacunas, entre otros. Una de las ventajas que aporta estas formulaciones

es su facilidad de administración, ya que se efectúa mediante jeringa convencional, a diferencia de otros sistemas, de mayor tamaño, que requieren incisiones quirúrgicas.

- Microencapsulación de células. Constituye un campo de aplicación reciente; se aplica el proceso de microencapsulación a estructuras como los Islotes de Langerhans o las células de Sertoli. La célula, una vez microencapsulada, queda protegida de una eventual respuesta inmunitaria, pudiendo actuar como sistema de liberación de fármacos biológicos o como órgano artificial híbrido, sin necesidad de utilizar inmunosupresores.
- Vectorización de fármacos. Una de las aplicaciones más novedosas de las micropartículas en cuanto a vectorización de fármacos se centra en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, como las enfermedades de Parkinson, Alzheimer o Huntington. Es bien conocido que la accesibilidad de los fármacos al sistema nervioso central se encuentra limitada por la barrera hematoencefálica, que restringe el paso de los xenobióticos en función de sus propiedades. En este sentido, ciertos péptidos y pequeñas moléculas con características adecuadas de lipofilia satisfacen los requerimientos de permeabilidad y alcanzan el sistema nervioso central. Sin embargo, el principal inconveniente es su limitada estabilidad. Con el fin de soslayar esta limitación, se pueden administrar micropartículas biodegradables en las proximidades del lugar de acción, habiéndose observado que la implantación intracerebral de dichos sistemas poliméricos da lugar a un importante incremento en su respuesta terapéutica.

Otra aplicación reciente de las micropartículas en vectorización está relacionada con la encapsulación de ácidos nucleicos capaces de modular la expresión génica de proteínas causantes de enfermedades, sobre todo de naturaleza tumoral, inhibiendo la expresión génica a nivel del RNA mensajero. Los compuestos más comúnmente utilizados son oligonucleótidos antisentido, ribozimas y, más recientemente, enzimas de DNA. Como la semivida biológica

de éstos es muy breve, debido a su rápida degradación en los fluidos biológicos, se requieren administraciones repetidas para conseguir una eficacia sostenida en el organismo. La encapsulación de estos compuestos en polímeros biodegradables los protege e incluso permite controlar la velocidad de liberación de la sustancia encapsulada, si se utilizan formulaciones adecuadas.¹⁸

Por otra parte, la encapsulación de antígenos en partículas sintéticas constituye una buena herramienta para el diseño de vacunas porque la protege de la degradación, aumenta su captura por las células dendríticas y, además, mediante el recubrimiento de las partículas con ligandos concretos se consigue una elevada especificidad.¹⁸

5. GENERALIDADES

La más reciente y profunda transformación que ha tenido la tecnología farmacéutica como disciplina científica que reúne el conjunto de conocimientos propios del arte de diseñar y de producir a nivel industrial medicamentos es producto de la necesidad de una farmacoterapia más segura y eficaz que debe responder más a las condiciones biológicas o fisiopatológicas específicas de cada paciente, que a un diseño orientado a grandes grupos de población, como ha sucedido con los medicamentos convencionales que conocemos.²

Las nuevas herramientas disponibles permiten diseñar diminutos sistemas biocompatibles, capaces de transportar y entregar sustancias terapéuticamente activas (drug delivery), en forma específica, hasta el sitio donde deben ejercer su acción. Esta especificidad es fundamental para reducir las dosis y disminuir o, incluso, eliminar los efectos colaterales indeseados, generalmente asociados a la toxicidad de las sustancias respecto de los tejidos sanos.¹

La nanociencia es la encargada del estudio, la comprensión y el control de fenómenos, así como la manipulación de materiales a escala nanométrica.²¹

La nanotecnología suele definirse como la ingeniería de la materia a escalas por debajo de los 100 nm, con el propósito de obtener nuevas propiedades y funciones dependientes del tamaño. En una definición más amplia, puede considerarse como el diseño, desarrollo y caracterización de productos con alguna dimensión o componente en el rango nanométrico, que le confiera una propiedad diferencial. El prefijo “nano” viene del griego y significa “enano”, y metrológicamente representa la mil millonésima parte de un metro, con lo cual 1 nanómetro (nm) equivale a 10^{-9} metros (m).¹

La nanotecnología se orienta al estudio y desarrollo de mejores materiales, de dispositivos y de sistemas que explotan las nuevas propiedades que se descubren de la materia. Propiedades nuevas que muestran la utilización de los materiales en los niveles físicos, químicos y biológicos. Comprende la representación gráfica, la medición, el modelado y la manipulación de la materia en una escala nanométrica. Las perspectivas de aplicación de la nanotecnología en el sector de la salud y para el desarrollo de una medicina personalizada parecen ser excelentes.²²

Indudablemente, la nanotecnología está transformando nuestras vidas e influenciando cada sector de la comunidad científica, tecnológica, industrial y financiera. Todas las sociedades, incluso las de países en desarrollo, son testigos de una verdadera revolución ante la irrupción en el mercado de productos nanotecnológicos para las más variadas aplicaciones, como, por ejemplo, en textiles, electrónica, metalúrgica, papel, construcción, alimentos, agroquímicos, cosméticos y medicamentos, entre otras.²²

Dentro de las nanotecnologías se encuentran las bionanotecnologías que investigan las interacciones entre los materiales nanométricos y los sistemas biológicos. Los productos de las bionanotecnologías incluyen a los nanomedicamentos y sus componentes como: aditivos para mejorar la solubilidad y biodisponibilidad de fármacos muy poco solubles; vehículos de administración de fármacos para desarrollar la persistencia circulatoria y la liberación dirigida hacia lugares específicos a células determinadas;

transportadores para favorecer su liberación controlada; adyuvantes para vacunas; medios de diagnóstico, dispositivos de administración de fármacos.²³⁻²⁵

Recientemente, se ha establecido el alcance de lo que se conoce como nanotecnología farmacéutica. Este concepto incluye las áreas de química combinatoria, macromoléculas biológicas, lab-on-a-chip y biosensores, terapia génica, dispositivos implantables y sistemas para drug delivery.¹

La importancia de la nanotecnología farmacéutica para la terapia con fármacos reside en la posibilidad de suministrar tanto fármacos de bajo peso molecular así como macromoléculas como los péptidos, proteínas y genes, de manera localizada o dirigida, hacia un cierto tejido de interés.²⁶

Considerando que los sistemas biológicos interactúan con su medio ambiente a través de moléculas y estructuras multimoleculares que operan en la nanoescala, es fácil comprender porque la nanotecnología tiene tanto potencial en el área de la salud, en los productos farmacéuticos y en la biotecnología. Una gran parte de la “maquinaria” superficial de las células y de los organelos intracelulares operan al nivel de nanómetros:

- regulando las acciones de las moléculas mensajeras como las hormonas y los mediadores,
- manteniendo la estabilidad iónica y
- fabricando una gran variedad de bloques de construcción para el organismo.

Las moléculas de tamaño nanométrico como los azúcares y péptidos (1-10 nm) se transforman en moléculas de tamaño nanométrico mayores (10-100 nm), para mediar funciones específicas, o son procesadas a través de sitios activos de receptores y enzimas. De esta manera, es muy prometedor para el futuro de la farmacia y la salud la creación y el control de la materia en forma de sistemas moleculares y dispositivos en la escala nanométrica a través de la integración de la química, la física y la ingeniería molecular.²⁶

La nanotecnología aplicada al diseño de productos farmacéuticos y veterinarios ha llevado a una nueva concepción de los sistemas terapéuticos. Un fármaco ideal debería ingresar al organismo en forma controlada, tanto temporal como espacialmente. Esto implica tener un acceso directo al sitio de acción, evitando los tejidos sanos; permanecer el tiempo que sea necesario para ejercer su acción terapéutica, y luego desaparecer del organismo. Lamentablemente, este no es el comportamiento de la mayoría de los fármacos de uso habitual.¹

La nanotecnología farmacéutica se enfoca al desarrollo de formulaciones de agentes terapéuticos en nanocomplejos biocompatibles entre los que se cuentan las nanopartículas, las nanocápsulas, los sistemas micelares, los dendrímeros, los fulerenos o nanoestructuras de carbono, las huellas cuánticas, los nanocomponentes derivados de la bioimitación o biomimética y los productos conjugados derivados de los anteriores. Estos sistemas se podrían utilizar para dar dirección al suministro de los fármacos, hacia un tipo de células o tejido específicos. También se podrían utilizar para mejorar la biodisponibilidad oral, para sostener el efecto de fármacos o genes en un tejido seleccionado, para solubilizar fármacos para una administración intravascular, y para mejorar la estabilidad de los agentes terapéuticos contra la degradación enzimática de las nucleasas y proteasas, especialmente en el caso de los fármacos en forma de proteínas, péptidos y ácidos nucleicos.²⁶

Los medicamentos más innovadores son formas de dosificación de fármacos y biofármacos, con capacidad de control sobre la dosis, el sitio, así como la velocidad de entrega de la sustancia activa, y en otros casos, ésta es vectorizada (dirigida) al órgano o célula diana, traspasando barreras o evitando obstáculos dentro del organismo que las recibe. Con ello estaría dándole una dimensión más tangible a lo formulado en 1959 por Richard P. Feynman — premio Nobel de Física en 1965—, en su famosa conferencia en la que a nivel mundial se dio crédito al inicio de la nanotecnología.²⁰

La nanomedicina y la nanotecnología farmacéutica son en la actualidad más que disciplinas, campos interdisciplinarios en la búsqueda de dar respuesta o

prevenir problemas de salud, desarrollando medicamentos con sistemas o estructuras de escala nanométrica, con los cuales se pretende resolver los problemas de solubilidad, así como de estabilidad física y química de los nuevos fármacos y biofármacos, particularmente en los fluidos biológicos. Estas nanoestructuras habrán de atravesar barreras fisiológicas como los epitelios y las membranas celular y nuclear, teniendo como consecuencia cambios en la farmacocinética y biodistribución de los principios activos, restringiendo así la toxicidad asociada a su biodistribución en tejidos donde no se requieren niveles de fármaco y, con ello, se aumenta su eficacia.²⁰

Las aplicaciones médicas de las tecnologías con escala nanométrica tienen el potencial de brindar nuevos y poderosos instrumentos para detectar, diagnosticar y tratar las enfermedades a nivel molecular. Los entusiastas de la nanotecnología alegan que la medicina nanológica revolucionará la atención a la salud.²⁷ Los desarrollos incluyen, por ejemplo:

- Nanosensores que circulen dentro del cuerpo para monitorear los niveles de glucosa, colesterol u hormonas.²⁷
- Nanoproyectiles de oro que hacen blanco en las células cancerosas, y que una vez que identifican las células tumorales pueden destruirse con un láser no invasivo.²⁷
- Nanopartículas “inteligentes” que buscan una localización específica dentro del cuerpo humano y luego suministran con precisión una dosis programada de medicamento.²⁷
- Puntos cuánticos luminiscentes que rastrean una proteína particular dentro de una célula viva.²⁷
- Nanopartículas de plata que maten microbios resistentes a los antibióticos.²⁷
- Armazones tridimensionales nanoestructurados para crecer nuevo tejido y órganos humanos.²⁷

En la nanotecnología, la nanofarmacia se podría definir como el uso de la nanotecnología para la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades y heridas así como para mejorar la salud y funcionamiento del organismo humano y de otros seres vivos.²²

Las aplicaciones de la nanofarmacia incluirían el descubrimiento de nuevos agentes farmacéuticos, el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos con localización o direccionamiento específico; además de la creación de “laboratorios en un chip” que desempeñen múltiples funciones in Vitro e in Vivo así como implantes y plataformas para tejidos.²⁶

A la nanomedicina así como a la nanofarmacia se les pueden asignar como propósito el seguimiento, control, construcción, reparación, defensa y mejoramiento de los sistemas biológicos humanos, trabajando desde el nivel molecular y utilizando la ingeniería de dispositivos y las nanoestructuras para lograr beneficios a la salud.²²

En este contexto se incluyen componentes nanométricos adecuados para integrarse en micro-dispositivos (que puedan tener una macro-interfase) o a un medio biológico. El enfoque se centraría en las nanointeracciones dentro del marco de un dispositivo mayor o biológicamente, dentro de un sistema celular o sub-celular.²⁶

Se espera poder diseñar elementos de diagnóstico y biosensores, mejores técnicas para obtención de imágenes así como productos farmacéuticos y tecnologías para la regeneración y reparación de los tejidos. Este desarrollo requerirá de reglamentos que garanticen la seguridad y la confiabilidad de los productos al pasar de la escala de laboratorio a la producción y a su utilización.²²

En lo que se refiere a las técnicas analíticas y la formación de imágenes, estos aspectos se ven como complementarios. Se espera que la nanotecnología o las nanotécnicas permitan analizar tejidos normales y tejidos patológicos, para identificar el inicio y el progreso de las enfermedades.²² Para este fin se espera en el futuro cercano:

- La identificación de nuevas sondas biológicas para obtener imágenes. Para observar en tiempo real e in vivo los procesos celulares y moleculares.²²
- La obtención de mecanismos para trasladar desde modelos animales hacia aplicaciones clínicas las investigaciones de obtención de imágenes moleculares utilizando herramientas de nanoescala.²²
- El desarrollo de dispositivos con propósito multimodal o múltiple para las tecnologías de obtención de nano-imágenes; para el diseño de las nanoherramientas analíticas aplicadas in vivo con elevada reproducibilidad, sensibilidad y confiabilidad. Estas herramientas serían un ejemplo para dar seguimiento a una enfermedad desde la etapa anterior a los síntomas. El reto actual sería la detección simultánea de varias moléculas, el análisis de componentes subcelulares a nivel molecular así como el reemplazo de los anticuerpos como reactivos de detección.²²

El futuro de la farmacia, en el área de la nanotecnología, con respecto al desarrollo de productos terapéuticos y sistemas de suministro de fármacos, estaría ligado a sería relativo a:

- El diseño de materiales estructurados, multifuncionales, capaces de atacar enfermedades específicas.²²
- El diseño de materiales conteniendo funciones que permitan el transporte a través de las barreras biológicas.²²
- El diseño de plataformas nanoestructuradas para la ingeniería de tejidos.²²
- El diseño de dispositivos sensibles a estímulos para la liberación de fármacos.²²
- El diseño de tratamientos orientados físicamente para la administración local de productos terapéuticos (vía pulmón, ojo o piel).²²

A un mayor plazo se espera el diseño de sistemas sintéticos bioresposivos, para el suministro intracelular de productos terapéuticos macromoleculares; el diseño

de sistemas bioresponsivos o autorregulados que incluyan nanoestructuras inteligentes como los biosensores, acopladas a sistemas de suministro de fármacos.²²

El futuro de la nanotecnología farmacéutica incluye varias líneas de investigación entre las cuales se cuentan:²²

- Transportadores de fármacos y sistemas de liberación de genes, supramoleculares autoensamblables.
- Nanopartículas y nanocápsulas.
- Tecnologías de anticuerpos.
- Conjugados de polímero-fármaco.
- Conjugados de polímero-proteína y anticuerpo.
- Nanoprecipitación y nanocristales.
- Tecnologías de emulsificación.
- Tecnología de los liposomas.
- Polimerización in situ.
- Reparación e ingeniería de los tejidos.
- Tecnologías con dendrímeros.
- Impresión molecular.

Algunos ejemplos de la utilización de nanotecnología en los sistemas de suministro de fármacos se incluyen al menos en dos áreas: tecnologías basadas en nanopartículas y las tecnologías basadas en materiales nanoestructurados.²²

Pese a que ya se comercializan algunos medicamentos nanológicos, ningún gobierno en el mundo ha desarrollado regulaciones que respondan a los aspectos básicos de una seguridad nanoescalar. A los gobiernos del mundo les urge una amplia evaluación participativa de los riesgos sociales y científicos, éticos, culturales, socioeconómicos y ambientales de la medicina nanológica. Mantener el paso del cambio tecnológico requiere un marco de trabajo intergubernamental que inspeccione y valore la introducción de nuevas tecnologías.²⁸

6. CLASIFICACIÓN DE LA NANOTECNOLOGÍA

La nanotecnología trabaja claramente con materiales estructurados en escala nanométrica o sea nanoestructuras. Estas nanoestructuras forman bloques de construcción (*building blocks*) como clusters, nanopartículas, nanotubos y nanofibras que a su vez se forman a partir de átomos y moléculas. Manipulando estos bloques de construcción se forman los materiales y dispositivos nanoestructurados que es el objetivo central de la nanotecnología.²⁹

Los materiales fabricados con la nanotecnología tienen menos defectos y mejor calidad. Sus propiedades son totalmente iguales, manteniendo todas las mismas cantidades de divisiones, longitud y diámetro de una forma diferente a cuando se manipula material en grandes cantidades.³⁰

La nanotecnología se divide en dos tipificaciones, según la técnica de aplicación: técnicas de *arriba hacia abajo* (*Top-down*) y técnicas de *abajo hacia arriba* (*Bottom-up*). En el caso de la nanotecnología *Top-down*, se trata de diseñar y miniaturizar el tamaño de estructuras para obtener a nanoescala sistemas funcionales en el caso de la producción de nanoelectrónica (miniaturización de sistemas electrónicos). Y en el caso de la nanotecnología tipo *Bottom-up*, se centra en la construcción de estructuras y objetos más grandes a partir de sus componentes atómicos y moleculares o sea este tipo de nanotecnología es acogida como el enfoque principal de la nanotecnología ya que permite que la materia pueda controlarse de manera extremadamente precisa. Por otra parte se puede clasificar o subdividir la nanotecnología según el ámbito de aplicación, de esta forma se puede dividir como seca y húmeda. Esta clasificación se determina según el medio en y para el cual se genera tal aplicación, el medio puede ser acuoso (nanotecnología húmeda) y el caso de la ausencia de un entorno húmedo (nanotecnología seca).³¹

La aplicación de la nanotecnología húmeda va dirigida al desarrollo de sistemas biológicos, estas incluyen la manipulación de material genético, membranas, enzimas y otros componentes celulares, que están inmersos en un medio

acuoso. Por parte de la nanotecnología seca, se resalta como característica su predominante aplicación en el campo de la electrónica y se puede mencionar como ejemplo el magnetismo, dispositivos ópticos y desarrollo de materiales inorgánicos.³²

Lo que caracteriza los campos de aplicación de la nanotecnología depende directamente de la forma, procedimiento y fin para lo que se da la manipulación de la materia en la escala nano. Estos materiales utilizados son llamados nanomateriales, los cuales pueden obtenerse del medio ambiente con sus características naturales o pueden ser generados de forma sintética a los cuales se les atribuye características especiales. A su vez los nanomateriales pueden ser subdivididos en nanopartículas, nanocapas y nanocompuestos.³³

7. NANOMEDICINA EN EL ÁMBITO SOCIOECONÓMICO

Aunque la medicina habilitada nanológicamente puede brindar beneficios, se mueve muy aprisa en ausencia de un debate público que aborde sus impactos económicos y sociales de largo alcance. Algunos productos nanométricos que se intenta usar en el cuerpo humano pueden ser terapéuticos, pero aún hay muchas preguntas sin respuesta en cuanto a los impactos de la nanotecnología en la salud y el ambiente. Los productos que incorporan materiales nanométricos mediante ingeniería podrían entrar al cuerpo accidentalmente a través del ambiente o la cadena alimenticia. Los desarrollos de la nanomedicina podrían dar por resultado personas más saludables aún cuando los nuevos materiales nanoscópicos liberados al ambiente puedan enfermar a la gente. Nadie está seguro de cómo poder distinguir entre los nanoprodutos benignos y los peligrosos, y el naciente campo de la nanotoxicología está teñido de incertidumbre.³⁴

Las nuevas tecnologías médicas son irrelevantes para la gente pobre si no se hacen accesibles o si son incosteables. La innovación científica es inútil si las

personas marginadas no tienen acceso a las tecnologías o a los tratamientos ya existentes.³⁵

La bolsa de trucos de la nanotecnología, con la que inventa nuevas moléculas manipula las ya existentes naturalmente podría maravillar por su potencial para mejorar la atención a la salud. La nanotecnología podría habilitar mejores sistemas de alerta temprana en el diagnóstico del cáncer y las afecciones cardíacas, curas para las enfermedades progresivas como la fibrosis quística, técnicas para realizar implantes tales como caderas artificiales más eficaces, incluso riñones artificiales.³⁶

El desarrollo de la medicina habilitada nanológicamente y su potencial para responder a las necesidades globales de salud deben examinarse en un contexto político y social más amplio. La crisis global de salud no surge de la ausencia de una tecnología médica ni de una falta de innovaciones. Pese a décadas de sorprendentes avances en la posibilidad de salvar vidas o de extenderlas mediante la tecnología, un tercio de la población mundial no puede acceder de modo estable a medicinas esenciales. Hay partes de África y Asia en que esta cifra se eleva a más de la mitad de la población. Según los informes publicados en 1988 y 2004 por la Organización Mundial de la Salud (OMS), el número de personas que no accede a medicinas esenciales permaneció fijo durante el lapso de 16 años entre informe e informe.³⁷

Los sistemas de suministro de fármacos habilitados con nanotecnología han demostrado ser un arma contra los genéricos, porque las nuevas reformulaciones nanoescalares pueden permitir que un compuesto existente califique como una Nueva Entidad Química. Las innovaciones médicas de la nanotecnología probablemente concentrarán más el poder de la industria farmacéutica y tendrán muy poca relevancia en su respuesta a los problemas de salud y pobreza de las comunidades marginadas.³⁸

La Organización Mundial de la Salud define los medicamentos esenciales como aquellos que satisfacen las necesidades prioritarias de atención a la salud

poblacional. En 1975, la Asamblea Mundial de la Salud hizo un llamado a la OMS para que ayudara a los Estados miembros a identificar y procurar medicinas esenciales que garantizaran seguridad, buena calidad y una efectividad adecuada en su costo. La primera lista de fármacos esenciales de la OMS (ahora conocida como EMI, en inglés por sus siglas, y en castellano como LME), publicada en 1977, fue descrita como “una revolución pacífica en la salud pública internacional”. El listado estableció el principio de que algunas medicinas eran más útiles que otras – y que muchos medicamentos esenciales son con frecuencia inaccesibles para la gente que los necesita. Hoy, la mayoría de los países mantiene listas nacionales de fármacos esenciales. Las listas son importantes porque guían los intentos del sector público en su procura de abasto de medicinas, y los programas que reintegran los costos de los medicamentos, las donaciones de medicinas y la producción local de fármacos.²⁷

En teoría, “se pretende que las medicinas esenciales estén disponibles en el contexto de los sistemas de salud vigentes todo el tiempo, en cantidades adecuadas, en las dosis y las formas adecuadas, con una calidad garantizada y a un precio que el individuo y la comunidad puedan costear”. Pero por supuesto la realidad es muy diferente. Existe una grave desigualdad en el acceso a los medicamentos esenciales aún y cuando este acceso se defina en los términos más modestos: la OMS entiende *acceso* como el porcentaje de la población que puede procurarse por lo menos 20 medicamentos esenciales, los cuales deben estar disponibles continuamente (y ser costeables) en las instalaciones de salud o en la farmacia, a menos de una *hora de caminata desde el hogar del paciente*.²⁸

En general, las críticas a las iniciativas de salud de gran perfil incluyen los malos manejos (corrupción rampante en algunos casos), duplicación de esfuerzos, ineficacia, cortedad de miras y falta de una “arquitectura” global capaz de aunar los esfuerzos. En un momento en que crece el entusiasmo por el potencial de la nanomedicina para resolver los mayores retos de salud en el mundo, es

importante enfatizar que ninguna innovación hará que estos problemas estructurales desaparezcan.³⁴

Los medicamentos habilitados nanológicamente y las tecnologías de mejoramiento del desempeño humano amenazan desviar, de las necesidades fundamentales de salud, los escasos fondos destinados a la investigación médica y su desarrollo.³⁵

La reformulación de los medicamentos en nanoescala puede incrementar las ganancias, expandir el caudal de propiedad intelectual de una empresa y desalentar a la competencia durante los años más importantes del medicamento.³⁵

Como ocurre tantas veces con las grandes farmacéuticas, los nuevos fármacos nanoformulados poco tienen que ver con la innovación, y absolutamente todo con las patentes, las ganancias y la ambición corporativa.³⁶

La nanotecnología alterará radicalmente varios aspectos de nuestras costumbres, no solamente de cómo vivimos y lo que consumimos, sino también la forma en que realizamos nuestros trabajos en cualquier área socioeconómica. Será fundamental, con los muchos cambios que trae la nanotecnología, pensar en lo que será prioritario para un desarrollo armónico, en referencia a los avances tecnológicos y sociales, para transformarlos en calidad de vida para todos, reuniendo el espacio que separó a la tecnología del humanismo.²

Las economías de las principales potencias mundiales, ya están comenzando a ser dominadas por la nanotecnología. Los países emergentes, recién se están organizando estructuralmente para permitir el desarrollo. Se calcula que en pocos años ésta moverá trillones de dólares en el mundo y hay que resaltar que toda esta evolución, ha ampliado la brecha aún más entre los países del primer mundo y aquellos emergentes.⁴

El medio ambiente como uno de los macro determinantes de la salud y la vida humana no podría dejar de ser una de las principales áreas en sentir el impacto de la nanotecnología.³

8. ¿POR QUÉ EN LA ESCALA NANOMÉTRICA?

La nanotecnología, promete ser la revolución de las revoluciones tecnológicas o mejor, la tercera revolución industrial. Se perfila como un conjunto de revoluciones tecnológicas multidisciplinares que permitirá a la sociedad maximizar la eficiencia en los procesos productivos y sociales. La nanotecnología se define como el campo de las ciencias aplicadas dedicados al control y manipulación de la materia a una escala menor que un micrómetro, es decir, a nivel de átomos y moléculas. Para tener una idea de lo que estamos hablando, la medida *nano* equivale a 70 mil veces menos que la espesura de un cabello.²⁹

La nanotecnología opera en la misma escala que la biología. Una molécula de ADN es de unos 2.5 nm de ancho y la hemoglobina (la proteína de la sangre que es responsable del transporte de oxígeno) es de unos 5 nm de diámetro. Las células humanas son mucho más grandes – en el orden de las 10-20 micras en diámetro (10 000 a 20 000 nanómetros) – lo que significa que los materiales y dispositivos nanoescalares pueden penetrar con facilidad en casi todas las células sin activar respuesta de inmunidad alguna.³⁵

La nanotecnología cambiará radicalmente el estudio de los mecanismos biológicos básicos y mejorará de modo significativo la prevención, la detección, el diagnóstico y el tratamiento de las enfermedades. Un punto clave de este potencial es que la nanotecnología opera en la misma escala que los procesos biológicos, lo que ofrece una ventaja única para observar y manipular los conductos y los procesos biológicos fundamentales.²⁷

Los materiales nanoescalares pueden diferir de sus versiones micro o macro en fuerza, color, elasticidad y/o toxicidad; pueden ser capaces de conducir electricidad de formas más eficientes o pueden ser más reactivas químicamente. Las propiedades ópticas, eléctricas o estructurales que son específicas de la escala nanométrica se conocen como “efectos cuánticos”. Es más, las propiedades cuánticas de una sustancia pueden cambiar dentro del rango de la escala nanométrica. Algunas nanopartículas de oro son inertes, por ejemplo, mientras otras nanopartículas de oro de diferente tamaño son reactivas; la forma importa también.²⁸

Es posible que viejos medicamentos, que ya no están en el mercado por su baja eficacia o por sus efectos colaterales potencialmente adversos en ciertas poblaciones de pacientes, puedan hacerse más eficaces o más seguros si se reformulan nanoscópicamente, lo que reduciría significativamente el costo de proceso de desarrollo de medicamentos. Las compañías farmacéuticas ya sacan ventaja de la expansión de la protección de sus patentes, algo que es posible mediante sus formulaciones nanoparticuladas.³⁶

Con el fin de reavivar viejos medicamentos, unas cuantas compañías previsoras usan la nanotecnología con más y más frecuencia. Si las compañías farmacéuticas reformularan los fármacos existentes en vez de desarrollar nuevos, esto reduciría sustancialmente los costos de desarrollo y a la vez extendería el ciclo de vida de la protección de una patente, lo que produciría millones más en ventas.³⁵

Lo irónico es que las cualidades que hacen tan atractivos los materiales nanoscópicos para los investigadores y para la industria, en un rango muy amplio de campos – su pequeñez, su movilidad y sus propiedades poco comunes –, podrían resultar las mismas cualidades que pudieran ser dañinas a la salud humana.³⁴

La toxicología de los materiales diseñados nanológicamente es en gran medida desconocida, y en que los datos de toxicidad no pueden extrapolarse de los

estudios toxicológicos existentes que se hicieran en partículas de escalas mayores.²⁸

Esto es así porque mientras más pequeña sea una partícula, mayor es el porcentaje de sus átomos que se hallan en la superficie. Una gran área superficial corresponde a un alto nivel de reactividad – y, en general, mientras más reactiva sea una sustancia, más tóxica es. Sin embargo, lo que es generalmente cierto puede no mantenerse en la escala nanométrica.²⁷

Un estudio efectuado en ratas muestra que nanopartículas inhaladas menores de 40 nm pueden llegar al cerebro (específicamente al bulbo olfativo) vía el nervio olfativo. Este hallazgo es potencialmente significativo para el desarrollo de métodos de suministro de medicamentos y para la nanotoxicología porque sugiere que las partículas nanoscópicas pueden ser capaces de burlar la muy cerrada barrera de sangre del cerebro.²⁷

9. NANOPARTÍCULAS. CARACTERÍSTICAS GENERALES Y PARTICULARES. SISTEMAS NANOTECNOLÓGICOS DE ENTREGA DE FÁRMACOS.

El uso de las nanopartículas en la nanomedicina abarca el empleo de éstas como soportes o plantillas mediante la funcionalización o encapsulación de fármacos para su posterior entrega en las células blanco.²² Con el empleo de las nanoformulaciones, un gran número de fármacos han mejorado su función terapéutica, reducido las dosis necesarias, así como las reacciones adversas.³⁹

Aunque pudiera haber algunos factores de preocupación con respecto al uso de nanopartículas in vivo, hay estudios en proceso para determinar la naturaleza y extensión de los efectos adversos. Se considera que las regulaciones deban aumentarse de tal manera que las nanopartículas sean seguras. La falta de evidencia acerca de los riesgos de la fabricación de los nanomateriales genera una gran incertidumbre. Se considera que aún debe estudiarse más la toxicidad,

la epidemiología, la persistencia y bioacumulación de los nanomateriales que se fabrican. De cualquier manera, las perspectivas de aplicación de la nanotecnología en el sector de la salud y para el desarrollo de una medicina personalizada parecen ser excelentes.²²

La superficie de las partículas puede ser modificada químicamente de modo tal de aumentar su especificidad y evitar que el mismo sea reconocido por el sistema inmune como un “objeto extraño”. La disminución del tamaño se traduce en el aumento de dicha superficie y en permitir que estos sistemas atraviesen membranas anatómicas. Como ejemplo, puede mencionarse la doxorubicinaliposomal, empleada para el tratamiento de cáncer de ovario y sarcoma de Kaposi en pacientes con SIDA. La incorporación de este fármaco en vesículas lipídicas de aproximadamente 120 nm, permite que éstas atraviesen los vasos de los tumores sólidos (que presentan poros de mayor diámetro respecto a la vasculatura del tejido sano), aumentando su especificidad y reduciendo la cardiotoxicidad del fármaco libre.²²

Debe tenerse en cuenta que el sistema nanotecnológico y la sustancia incorporada conforman una nueva entidad funcional. Por lo tanto, no sólo debe ser diseñado en forma adecuada, sino también caracterizado, de modo tal de garantizar la seguridad de su administración. En algunos casos, los nano o microsistemas pueden considerarse robustos a escala internacional, como es el caso de los liposomas, las microesferas biodegradables, las nanopartículas de albúmina y los virosomas, que han sido aprobados por autoridades sanitarias internacionales. En otros casos, se trata de sistemas experimentales, para los cuales deben diseñarse y validarse los métodos de caracterización, prestando especial atención en los ensayos de toxicidad que sean requeridos en cada caso.²²

Un sistema particulado, como las micelas o las nanocápsulas, permite que una sustancia circule por el organismo protegida del entorno, que suele ser química y biológicamente hostil, minimizando su hidrólisis, oxidación o ataque enzimático.

La disminución del tamaño se traduce en el aumento de la superficie de las partículas y en permitir que estos sistemas atraviesen membranas anatómicas.

Otros sistemas promisorios son las nanopartículas a partir de polímeros naturales, con un especial interés en el quitosano y sus derivados, por sus propiedades mucoadhesivas. También existen numerosos grupos de I+D dedicados al estudio de los dendrímeros y sus aplicaciones en drug delivery. Se trata de estructuras ramificadas, construidas por síntesis química en el rango molecular, lo cual permite la obtención de nano-objetos ad hoc para cada aplicación. Por su tamaño controlado y monodisperso (unos pocos nanómetros), son capaces de penetrar al interior celular directamente, por generación de hoyos transitorios. No deben dejar de mencionarse sistemas promisorios como las nanopartículas lipídicas sólidas, los arqueosomas y los nanocristales, cada uno con sus características diferenciales.¹

Las nanocápsulas conteniendo el fármaco se podrían recubrir con anticuerpos o receptores de la superficie celular que se unen a ciertas células para liberar su carga de fármacos al contacto con ellas. Se cree que las nanocápsulas también podrían proveer de un medio para atravesar la barrera hematoencefálica para el tratamiento de ciertas enfermedades de los ojos, el cerebro y otras porciones del sistema nervioso central.²²

Las nanopartículas pueden imitar o modificar procesos biológicos y pueden brindar soluciones a viejos problemas asociados con la solubilidad, biodisponibilidad, inmunocompatibilidad y citotoxicidad de muchos de los medicamentos de uso tradicional.³⁹

Las nanopartículas utilizadas en la administración de fármacos para terapia o para diagnóstico son sólidos coloidales que varían su tamaño de 2 nm a 1000 nm. Sin embargo, partículas mayores de 200 nm no son muy utilizadas debido a que pueden activar el sistema inmunológico y ser aclaradas en la sangre por las células Kupffer.³⁹

Las ventajas del uso de nanopartículas para la administración de fármacos están dadas, principalmente, por su pequeño tamaño y el empleo de materiales biodegradables. Debido a su tamaño, las nanopartículas pueden atravesar los sitios de inflamación del endotelio, el epitelio (por ejemplo, el tracto intestinal, el hígado y otros), tumores o penetrar microcapilares.³⁹

Después de la producción y purificación de las nanopartículas, hasta un nivel satisfactorio, puede ser necesario funcionalizarlas. Este es un proceso intermedio que les prepara para ciertas aplicaciones. Las nanopartículas pueden funcionalizarse de muchas diferentes maneras, entre ellas por recubrimiento y por modificación química. La funcionalización es un paso extra en la preparación que agrega costos a la cadena de producción pero que puede tener tan marcados efectos que le hacen necesaria en algunos casos.²⁶

La incorporación en nanocomplejos, como una siguiente etapa de la nanomanufactura, significa el colocar nanomateriales (nanofases, nanofibras, nanopartículas) en forma de bloques de construcción para formar complejos que proveen de:

- a) propiedades específicas en la nanoescala. Por ejemplo la fluorescencia de las huellas cuánticas (quantum dots)²⁶,
- b) la actividad catalítica específica de nanopartículas o propiedades específicas en la macroescala, por ejemplo propiedades mecánicas o tribológicas.²⁶

Las nanopartículas se pueden definir como sistemas sólidos, de tamaño submicrométrico (1-1000 nm), biodegradables o no. El término nanopartícula engloba las nanoesferas y las nanocápsulas, con estructuras análogas a las de las micropartículas. La principal ventaja de las nanopartículas con respecto a las micropartículas es que poseen la capacidad de atravesar membranas biológicas, en particular las del epitelio intestinal, por lo que pueden favorecer el proceso de absorción de algunas moléculas, como las proteínas.²²

Con el fin de diseñar estos sistemas del modo más efectivo posible, es imprescindible conocer cómo se produce el aclaramiento de estas partículas en el organismo; a continuación se detalla una breve descripción del proceso. Una vez que las nanopartículas llegan a la sangre, son captadas y eliminadas de la circulación por las células de Kúpffer y los macrófagos mediante un mecanismo que es facilitado por la adsorción en su superficie de opsoninas y proteínas del complemento. Se ha demostrado que los procesos de fagocitosis y aclaramiento plasmático de nanopartículas están claramente relacionados con su tamaño y características superficiales. Por lo tanto, con el fin de prolongar el tiempo de permanencia de las nanopartículas en la circulación, se deben diseñar estrategias conducentes a evadir la acción de los macrófagos y suprimir la opsonización.²²

El tamaño de las partículas ha de ser lo suficientemente elevado (superior a 30 nm) para no ser destruidas en los capilares sanguíneos, y además debe ser inferior a 100 nm para escapar a su captación por parte del sistema reticuloendotelial.²²

Por otra parte, los sistemas convencionales, es decir, las partículas que no sufren modificación superficial alguna, y las vesículas cargadas negativamente, son opsonizadas con rapidez y aclaradas masivamente del organismo por la acción de los macrófagos. Mediante la modificación de la superficie de las partículas se puede controlar la agregación de éstas a los intersticios, su cinética de drenaje, así como su retención en los nódulos linfáticos. En este sentido, las partículas con características hidrófilas se repelen entre sí e interaccionan poco con las regiones intersticiales, drenando rápidamente hacia el tejido linfático. La modificación superficial de éstos sistemas nanoparticulares con polímeros hidrófilos constituye la vía más comúnmente utilizada para controlar el proceso de opsonización, empleando polímeros como polietilenglicol, y otros de naturaleza biodegradable como ácido poliláctico (PLA), ácido poliglicólico (PGA) y copolímeros de ambos (PLGA). Otro polímero empleado en la elaboración de nanopartículas es el quitosano, polisacárido lineal catiónico con propiedades

bioadhesivas. Sus derivados se usan frecuentemente, bien como promotores de la absorción de fármacos a través de diversas mucosas como la nasal o pulmonar, o también como vehículos no virales de material genético y vacunas.²²

Las aplicaciones biológicas de las nanopartículas abren nuevas posibilidades en el diagnóstico y tratamiento de numerosos procesos patológicos. Una de ellas hace referencia al diagnóstico del cáncer, para el que se utilizan nanopartículas fluorescentes con el fin de detectar simultáneamente el perfil de los biomarcadores y genes múltiples. En el cáncer de mama, pueden detectarse hasta tres biomarcadores distintos, que se pueden cuantificar exactamente en secciones tumorales mediante el uso de nanopartículas conjugadas a anticuerpos. En un futuro próximo, el uso de nanopartículas conjugadas permitirá, al menos, la detección de 10 proteínas relacionadas con el cáncer, proporcionando un nuevo método de análisis del proteoma de un tumor individual. Así mismo, las nanopartículas supermagnéticas ofrecen interesantes posibilidades como agentes de contraste en la detección del cáncer y en la monitorización de la respuesta al tratamiento. Ya se encuentran disponibles algunos agentes quimioterápicos formulados en nanopartículas que presentan eficacia similar y reducción de efectos adversos cuando se comparan con las formulaciones convencionales.²²

Otras aplicaciones de las nanopartículas en el campo de la liberación controlada incluyen los denominados nanotubos. Estos sistemas se originan al unirse el fármaco a grupos funcionales de la superficie externa de los polímeros, dando lugar a una estructura cilíndrica con un volumen interior relativamente grande. Estos vectores se están estudiando como agentes antivirales, antibacterianos y anticancerígenos, así como en el tratamiento de la esclerosis lateral amiotrófica y de la enfermedad de Parkinson. Otros nanosistemas que se encuentran en fase de investigación son las nanoláminas, que contienen el fármaco embebido en el material polimérico; al ser inyectadas al paciente, se acumulan selectivamente cerca de la zona tumoral y cuando se calientan por acción de un láser infrarrojo,

se produce la fusión del polímero y la liberación de la molécula activa en el área afectada.²²

Los métodos de preparación de nanopartículas son actualmente muy numerosos, pudiendo agruparlos en aquellos en los que se realiza una polimerización a partir de monómeros o bien aquellos que parten del polímero. La elección de la técnica de preparación depende de las características del material formador del sistema y de la solubilidad del principio activo que se desea incorporar.²²

Tamaño de partícula

Algunas nanopartículas pueden atravesar la barrera hematoencefálica. Esto proporciona la entrega sostenida de los agentes terapéuticos para enfermedades difíciles de tratar, como por ejemplo, los tumores cerebrales. Se ha observado que las nanopartículas cubiertas con Tween 80 pueden atravesar muy bien la barrera hematoencefálica. Esto indica que la distribución de partículas, en parte, puede ser dependiente del tamaño de las partículas.⁴⁰

Las partículas pequeñas tienen una mayor relación área superficial-volumen, lo que favorece una mayor asociación del fármaco con las moléculas del órgano diana (al estar más expuesto) y por tanto, una liberación más rápida del fármaco. Por otra parte, las partículas de mayor tamaño tienen grandes núcleos, lo que permite una mayor cantidad de fármaco encapsulado por las partículas y hacen que la liberación sea más lenta.²⁴

La reducción del tamaño de partícula puede aumentar la velocidad de disolución y con esto dar una mayor biodisponibilidad. Este efecto puede determinar una mejor biodisponibilidad del fármaco.⁴⁰

Propiedades superficiales

La hidrofobicidad de las nanopartículas determina los componentes de la sangre que se unen a su superficie. Por lo tanto, la hidrofobicidad influye en el destino *in vivo* de las nanopartículas. Una vez en el torrente sanguíneo, las nanopartículas

a las cuales no les ha sido modificada su superficie son rápidamente aclaradas por el sistema mononuclear fagocítico.⁴¹

Para prolongar la circulación de nanopartículas in vivo podría lograrse mediante el recubrimiento de las nanopartículas con polímeros o surfactantes hidrofílicos, o mediante la formulación de nanopartículas con copolímeros biodegradables con características hidrofílicas, por ejemplo, polietilenglicol (PEG), óxido de polietileno y polisorbato 80 (Tween 80).⁴²

El potencial zeta de las nanopartículas se utiliza comúnmente para caracterizar la carga superficial de ellas. Refleja el potencial eléctrico de las partículas y depende de la composición de la partícula y el medio en el que se dispersa. Las nanopartículas con un potencial zeta por encima de ± 30 mV han demostrado ser estables en suspensión. El potencial zeta también se puede utilizar para determinar si un material cargado es encapsulado en el centro de la nanopartícula o en la superficie.⁴³

Tipos de formulaciones y velocidad de liberación

La velocidad de liberación del fármaco depende, en cada caso específico, de la solubilidad del fármaco, su desorción si está unido a la superficie del portador, de la velocidad de hinchamiento de la matriz por el penetrante acuoso y de la velocidad de difusión del fármaco ocluido en una matriz hinchada y de la velocidad de degradación de la matriz si ésta es degradable. Por lo tanto, la solubilidad, la difusión y la biodegradación de las partículas de la matriz o su velocidad de hinchamiento con agua rigen el proceso de liberación.²⁴

En el caso de nanoesferas, en las que el fármaco se encuentra uniformemente distribuido, su liberación se produce por difusión a través de la matriz degradable o de la degradación de la matriz.²⁴

Si la nanopartícula está cubierta por algún polímero, la liberación es controlada por la difusión de la droga a través de la membrana polimérica. El revestimiento de la membrana actúa como una barrera de liberación del fármaco, por lo tanto,

la solubilidad de los fármacos y su difusión a través de la membrana polimérica se convierte en un factor determinante en la liberación del fármaco.²⁴

Orientación de la administración de fármacos

La administración selectiva de fármacos puede ser activa o pasiva.⁴⁴ La orientación activa requiere del agente terapéutico y se logra mediante la conjugación de este o un sistema de soporte a un tejido o a un ligando de células específicas. La orientación pasiva se logra mediante la incorporación del agente terapéutico en una macromolécula o nanopartícula que pasivamente alcanza el órgano diana.⁴⁵

Estrategias de transporte activo de fármacos sensibles a estímulos

Los sistemas transportadores sensibles a estímulos tienen un diseño esencialmente polimérico (aunque también liposomal), que pretende hacerlos sensibles a pequeñas modificaciones de su entorno, lo que provoca cambios muy rápidos en su estructura y propiedades físicas (p. ej., ruptura/agregación, hinchamiento/achicamiento, etc.). Cambios que son reversibles, y hacen que el polímero sea, en principio, capaz de volver a su estado inicial tan pronto como desaparece el estímulo. Los estímulos responsables de todo esto se pueden producir en el interior del organismo (p. ej., cambios de pH en ciertas zonas del organismo o como consecuencia de procesos patológicos, cambios de temperatura, interacción con sistemas enzimáticos degradadores, etc.) o bien en el exterior (p. ej., campos magnéticos, eléctricos, luz, ultrasonidos, etc.). Esta estrategia de transporte activo de fármacos está basada en que la sensibilización del coloide transportador se produce sólo cuando éste queda bajo la influencia de un estímulo localizado exclusivamente en la región diana. Como consecuencia de esta alteración del sistema coloidal en el lugar deseado, se producirá la liberación del fármaco y, así, su acumulación selectiva en el tejido diana y la reducción de la incidencia y severidad de las reacciones adversas asociadas a la extensa biodistribución del principio activo. Así se puede

conseguir también la modulación de la duración e intensidad del efecto farmacológico.²²

Control de los procesos de liberación de fármacos mediante cambios en el pH.

Es una de las estrategias de transporte activo de fármacos más prometedoras en la actualidad. Está basada en la utilización de materiales para la formulación de nanopartículas que sean extremadamente sensibles a pequeños cambios de pH con respecto al natural de la sangre ($\text{pH} \approx 7.4$)^{4,5}. Una posibilidad alternativa es la utilización de sistemas transportadores (p. ej., liposomas) sensibles a pHs entre 4.5 y 5.06-8. De forma general, los materiales poliméricos que son sensibles a pHs ácidos contienen grupos carboxilo o sulfónicos, mientras que los sensibles a pHs básicos contienen en su estructura química sales de amonio. Todos estos grupos químicos son capaces de captar o ceder protones ante un cambio de pH determinado, lo que genera en su estructura cambios conformacionales que afectan a su solubilidad o inducen su hinchamiento y, así, a su destrucción.²²

Control de los procesos de liberación de fármacos mediante cambios en la

temperatura. Los coloides termosensibles se caracterizan por sufrir un proceso de desestabilización/destrucción ante un ligero aumento de temperatura. Este comportamiento es típico de polímeros o hidrogeles que presentan grupos hidrófobos (p. ej., metilo, etilo y propilo). De esta manera, los materiales poliméricos utilizados se caracterizan por una temperatura crítica de disolución que, al superarse, determina su disolución y la consiguiente liberación del fármaco transportado. Uno de los tipos de coloides que más importantes aplicaciones presenta en hipertermia son las nanopartículas magnéticas. Esto es debido a que son capaces de responder a gradientes electromagnéticos alternos, generando calor, lo que puede permitir su acumulación selectiva en el lugar de acción y la activación de la liberación de fármaco.²²

Transporte de fármacos mediante la utilización de gradientes magnéticos.

Por su capacidad de respuesta a gradientes magnéticos, los coloides magnéticos son capaces de conducir la dosis de fármaco vehiculizada de manera específica

hasta el lugar de acción. Así, mediante un gradiente magnético se puede dirigir y concentrar este tipo de coloides en el lugar diana, manteniéndolo concentrado en este lugar durante el tiempo preciso para que todo el fármaco sea liberado. Sin embargo, los núcleos de óxido de hierro que generalmente constituyen este tipo de nanopartículas deben recibir un recubrimiento biodegradable mediante un material polimérico o lipídico con una notable capacidad para el transporte de fármacos (gran vehiculización, junto con una liberación lenta y controlable gracias a su biodegradación o a la utilización de algún tipo de estímulo físico).²²

Control de los procesos de liberación de fármacos mediante la luz. Esta estrategia se basa en el diseño de materiales capaces de responder a estímulos luminosos (principalmente, luz ultravioleta o visible). Los nanosistemas transportadores de fármacos capaces de degradarse ante un estímulo de luz visible (liberando así el fármaco transportado) son realmente interesantes por su seguridad, bajo coste y fácil manipulación. Además, el estímulo luminoso puede ser administrado en cantidades bien definidas y de forma muy precisa.²²

Control de los procesos de liberación de fármacos mediante los ultrasonidos. Esta estrategia está basada en que al exponer la región diana a la acción de unos ultrasonidos se logra la degradación de forma selectiva en esta zona de la nanopartícula transportadora y, además, la liberación total del fármaco en el lugar de acción. La utilización de ultrasonidos en el control de la liberación específica de fármacos en la región diana es una estrategia no invasiva, con una adecuada capacidad de penetración corporal.²²

Control de los procesos de liberación de fármacos mediante la utilización de sistemas enzimáticos. Esta estrategia de transporte activo de fármacos está basada en que las enzimas presentes de forma natural en la región diana pueden provocar la liberación del fármaco vehiculizado desde el sistema transportador, al inducir la degradación de éste.²²

Los coloides sensibles a estímulos tienen la capacidad de modificar sus propiedades físicas ante un estímulo específico. Esta propiedad es muy utilizada

para que el fármaco se acumule y quede libre específicamente en la región diana. Así, la distribución sistémica del fármaco se minimiza, lo que reduce significativamente la incidencia de efectos severos adversos y mejora ostensiblemente el efecto farmacoterapéutico. Entre las estrategias de transporte activo basadas en este tipo de nanopartículas destacan el transporte activo de fármacos controlado por entornos ácidos, hipertermia, gradientes electromagnéticos alternos, luz, ultrasonidos y sistemas enzimas. Se espera que su introducción en clínica permita mejorar significativamente la actividad farmacológica de los principios activos. Si bien se han logrado resultados preclínicos muy prometedores, el futuro de esta estrategia depende de un mayor conocimiento sobre la estabilidad, fisicoquímica, toxicidad y destino biológico de estos coloides.²²

Sistemas nanotecnológicos de entrega de fármacos

En la actualidad, existen numerosos sistemas nanotecnológicos de entrega de fármacos, desde los que se encuentran en una etapa de investigación hasta productos consolidados en el mercado. Entre los sistemas pioneros pueden mencionarse los liposomas y las microemulsiones, ambos sistemas coloidales, que han dado origen a productos que mejoran la terapéutica de numerosas patologías, como, por ejemplo, algunos tipos de cáncer, la leishmaniasis, y la enfermedad degenerativa de la mácula. También debe mencionarse el desarrollo de los virosomas, sistemas que combinan lípidos con proteínas virales con acción adyuvante, lo cual ha permitido la comercialización de vacunas para la gripe y la hepatitis. Además, se encuentran en fases clínicas de investigación sistemas de liposomas conteniendo vincristina, paclitaxel, platinos, amikacina, cyclosporina A, nystatina, prostaglandina E1, Interleukina-2, así como productos para terapia génica. Dentro de los sistemas coloidales, se destacan las micelas, que han dado origen al desarrollo de la controvertida insulina inhalada, aprobada por la FDA en el año 2006. En particular, las propiedades singulares de las micelas poliméricas compuestas por polímeros di-bloque o tri-bloque están

promoviendo su estudio para numerosas aplicaciones, si bien aún deben resolverse problemas asociados a su estabilidad in vivo.¹

Existen, además, propuestas para aplicaciones terapéuticas de otros nano-objetos de gran difusión, como, por ejemplo, los nanotubos de carbono; sin embargo, aún quedan muchos aspectos por elucidar con respecto a su toxicidad in vivo.¹

Las estructuras en nano-dimensiones se cree promuevan la generación de nuevos mecanismos de suministro de los fármacos. Las nanoestructuras tendrían la ventaja de ser capaces de evitar el sistema inmune y de atravesar algunas barreras que el cuerpo utiliza para evitar la penetración de sustancias extrañas o no deseadas; barreras como la hematoencefálica y la pared del tracto gastrointestinal. Se considera que los compuestos farmacéuticos reformulados como nanopartículas también podrían ser biológicamente más activos, debido a su área superficial muy grande que podría aumentar su biodisponibilidad.²²

Se considera que existan dos diferentes maneras de abordar la nanotecnología. La primera sería la producción de arriba hacia abajo (“Top-down”) en la cual se toman materiales y se transforman en la estructura deseada, por ejemplo, a través de maquinado y de gravado o impresión. La producción de abajo hacia arriba (“Bottom-up”) se refiere a la construcción de estructuras orgánicas e inorgánicas átomo por átomo y molécula por molécula.²⁶

Entre los métodos de producción y procesamiento tenemos la manufactura de nanomateriales y la manufactura de nanosuperficies. En la primera se consideran la producción de partículas con al menos una nanofase, la funcionalización de partículas y la integración sencilla de nanocomplejos. En la manufactura de nanosuperficies se consideran la creación de nanosuperficies, la funcionalización de superficies y la formación de monocapas así como la nanoestructuración y recubrimiento de superficies. Las nanopartículas con una nanofase se definen como partículas sólidas con cuando menos una fase (cara, parte) con dimensiones entre 1nm y 100nm.²⁶

Debe tenerse en cuenta que el sistema nanotecnológico y la sustancia incorporada conforman una nueva entidad funcional. Por lo tanto, no sólo debe ser diseñado en forma adecuada, sino también caracterizado, de modo tal de garantizar la seguridad de su administración. En algunos casos, los nano o microsistemas pueden considerarse robustos a escala internacional, como es el caso de los liposomas, las microesferas biodegradables, las nanopartículas de albúmina y los virosomas, que han sido aprobados por autoridades sanitarias internacionales. En otros casos, se trata de sistemas experimentales, para los cuales deben diseñarse y validarse los métodos de caracterización, prestando especial atención en los ensayos de toxicidad que sean requeridos en cada caso.¹

Las principales controversias en torno a la nanotecnología son aquellas referentes al reto actual que tienen los países en desarrollo como México, de conseguir como sucede en países con mayor grado de desarrollo científico y tecnológico, en el marco de una política con responsabilidad social y sentido de sustentabilidad, una mayor inversión y protección industrial sobre los desarrollos obtenidos en este campo, así como alcanzar una verdadera y eficiente vinculación con la industria, de las instituciones públicas y privadas que realizan investigación, desarrollo e innovación. Sólo así se podrá elevar el nivel de bienestar social, económico y de salud en el país, reduciéndose, asimismo, la dependencia tecnológica en materia de productos basados en la escala nanométrica.²⁰

Dentro de la nanotecnología, los nanobots (nanotechnology robots), aún por desarrollarse, serían la siguiente generación de las nanomáquinas. Los nanobots avanzados serían capaces de sensar y adaptarse a estímulos del medio ambiente como el calor, la luz, los sonidos, las texturas de las superficies y a los materiales químicos. Además, los nanobots serían capaces de ejecutar cálculos complejos, de moverse, de comunicar y de trabajar en grupo; de conducir el ensamble de moléculas y, de alguna manera, de repararse o aun de multiplicarse ellos mismos. Los nanobots incluirían pequeños dispositivos que

puedan interactuar con las células en el cuerpo humano, a un nivel molecular, para un diagnóstico y para un tratamiento más preciso de una enfermedad.²⁰

Liposomas

Vesículas esféricas compuestas de fosfolípidos anfifílicos y colesterol, que se autoasocian en bicapas para encapsular un interior acuoso. Dependiendo de su tamaño y el número de bicapas, los liposomas se pueden clasificar en tres categorías: vesículas multilamelares, unilamelares grandes y pequeñas. Los liposomas pueden clasificarse en términos de la composición y el mecanismo de administración intracelular en cinco tipos: convencionales, sensibles al pH, catiónicos, inmunoliposomas y los de elevada circulación.²²

Algunos de los principales problemas que limitan la producción y el desarrollo de liposomas son su estabilidad, pobre reproducibilidad de lote a lote y dificultades en su esterilización.²²

Las ventajas de los liposomas se revelan en el hecho de que son capaces de incorporar a su estructura moléculas hidrofílicas, hidrofóbicas y también de carácter anfifílico. Sus propiedades físicas como la carga superficial, el tamaño, la permeabilidad o rigidez de la pared o su capacidad de carga pueden ser fácilmente modificadas. Evitan el empleo de disolventes en la preparación de nanoformulaciones y poseen un amplio espectro de utilidad debido a su aplicación tanto por vía intravenosa, oral o por la piel.²²

Micelas

Partículas coloidales nanométricas, generalmente esféricas, con un interior hidrofóbico y un exterior hidrofílico. El tamaño de éstas partículas es inferior a 50 nm de diámetro. Pueden circular durante periodos prolongados en la sangre, evadiendo el sistema inmunológico del paciente. Por ello, se pueden utilizar para la liberación gradual de fármacos y facilitar el diagnóstico in vivo. El exterior hidrofílico de las micelas está diseñado para ser termodinámicamente estable y biocompatible.²²

Las micelas proporcionan una alternativa segura para la administración de fármacos poco solubles en agua, tales como anfotericina B, el propofol, el paclitaxel y varios fotosensibilizadores.²²

En particular, las micelas pueden proporcionar la administración prolongada de fármacos directamente en el tumor, haciéndolos capaces de cruzar la barrera hematoencefálica. Esto se logra mediante la funcionalización de la superficie del material con péptidos y ligandos permitiendo que el material cargado con el fármaco pueda ser administrado por vía sistémica, aunque estos aún se dirigen específicamente al endotelio del tumor.²²

Entre las ventajas que poseen los sistemas micelares se encuentran: su diámetro apropiado para período prolongado de vida media en sangre, no acumulación a largo plazo, gran solubilidad en agua, elevada estabilidad estructural, microdepósito en el núcleo hidrófobo y funcionalidad separada.²²

Se evita el efecto de toxicidad asociada a la acumulación del fármaco de larga duración, ya que este está circulando en la sangre en forma de micelas.²²

Dendrímeros

Son una clase única de macromoléculas, sintetizadas mediante una serie de reacciones sucesivas de adición (o condensación) controladas sobre un núcleo polifuncional.²²

Los dendrímeros utilizados en la administración de fármacos son generalmente de 10 a 100 nm de diámetro, con múltiples grupos funcionales en su superficie, lo que hace que sean ideales como transportadores para la entrega de fármacos.²²

Las aplicaciones farmacéuticas de los dendrímeros incluyen formulaciones de antiinflamatorios no esteroideos, antibióticos, fármacos antivirales y agentes contra el cáncer.²²

Nanosistemas de diagnóstico

No son solamente las terapias que están avanzando en la nanotecnología, el diagnóstico no se queda atrás. De la mano de la nanotecnología nos encontramos con la era del diagnóstico molecular y cuántico, estos son sofisticados y precisos, que hacen posible identificar enfermedades genéticas e infecciosas. Entre los tipos de diagnósticos están los Puntos Cuánticos y los *Nanoshells*.⁵

El objetivo de los nanosistemas es identificar la aparición de una enfermedad precisa en los primeros estados a nivel celular o molecular, mediante la utilización de nanopartículas o nanodispositivos. Los nanosistemas de diagnóstico se pueden aplicar *in vitro* o *in vivo*.⁶

En aplicaciones de diagnóstico *in vitro*, los nanodispositivos son capaces de detectar con sorprendente rapidez, precisión y sensibilidad la presencia de microorganismos patógenos, proliferaciones celulares precancerosas y defectos en el ADN a partir de muestras de fluidos corporales o de tejidos.²⁹

En aplicaciones de diagnóstico *in vivo*, se pueden desarrollar nanodispositivos biocompatibles, que, por ejemplo, al ser administrado en el cuerpo humano pueden efectuar unas búsquedas selectivas para identificar una enfermedad y cuantificar la presencia de una determinada molécula o de células cancerígenas.³⁰

Puntos cuánticos

Partiendo de la presunción que todo en la escala biológica es nanotecnología, se están desarrollando una serie de aplicaciones nano con uso médico, este tipo de aplicaciones se están destinando básicamente a diferentes procedimientos para llegar a diagnósticos más precisos y rápidos con la utilización de puntos cuánticos o más conocidos también como *Quantum Dots*. Los puntos cuánticos consisten en dispositivos de baja dimensión y su tamaño nanométrico provoca un efecto de confinamiento en su estructura. Son fabricados por nanocristales

semiconductores *nanoleads* y contienen sólo unos cientos de átomos. Cuando son excitados emiten luz en diferentes longitudes de onda dependiendo de su tamaño, por lo que son extremadamente útiles como marcadores biológicos de la actividad celular. Para llegar a este grado de funcionalidad, los puntos cuánticos requieren de una protección externa (*shell*) que evita que el núcleo sufra una disolución espontánea. Como ejemplo se puede decir que esta aplicación es utilizada para identificar bacterias infecciosas. Para ello bastaría conectar algunos puntos cuánticos con anticuerpos y usar las propiedades luminosas de los puntos, para observar como ellos reaccionan. Todos estos nuevos procedimientos que están siendo utilizados con nanotecnología son denominados de medicina cuántica.³¹

Son nanocristales coloidales semiconductores que tienen un diámetro de 2 a 10 nm. Pueden ser sintetizados a partir de diversos tipos de materiales semiconductores a través de la síntesis coloidal o por síntesis electroquímica. Los puntos cuánticos más utilizados son el seleniuro de cadmio (CdSe), el telurio de cadmio (CdTe), el fosfuro de indio (InP), y el arseniuro de indio (InAs). En las imágenes de tejidos biológicos, estas partículas sirven de agentes de contraste, proporcionando una resolución mucho mayor que los actuales tintes fluorescentes.²²

Sin embargo, entre los principales desafíos para las aplicaciones en disolución de los puntos cuánticos se tiene su biocompatibilidad y su estabilidad fisiológica. Sin un ligando apropiado los nanocristales pueden agregarse, perder sus propiedades fotoluminiscentes, no tener un tiempo adecuado de circulación en el organismo, quedar atrapados en enlaces no-específicos y ser tóxicos.²²

Nanoshells

Son nanopartículas que se conforman por una delgada capa metálica generalmente de oro, de unos 8 a 10 nanómetros que recubre una estructura esférica de silicio de un diámetro aproximado de unos 100 nanómetros. Los *nanoshells* poseen la capacidad de absorber o reflejar rayos de luz a la longitud

de onda deseada, lo que les confiere una propiedad de luminiscencia reactiva, que en determinado momento si la fuente de luz persiste durante cierto tiempo, induciría a los *nanoshells* a incrementar su temperatura hasta valores suficientes como para “destruir” células enfermas o generar procesos acelerados de escarificación o reconstrucción. Como consecuencia, las nanopartículas *nanoshell*, ofrecen una plataforma tecnológica para una amplia variedad de terapias diagnósticas, todas ellas sujetas a la posibilidad de ligar a la superficie metálica de una *nanoshell*, moléculas receptoras específicas a una sustancia u organismo prepatógeno en particular.³⁰

Las propiedades de las *nanoshells* son aplicables en la localización, reconocimiento y destrucción termal de células cancerígenas específicas y de angiogénesis particulares en la proliferación tumoral, utilizando un láser infrarrojo que penetra los tejidos y sangre sin dificultad para generar la reacción deseada en las nanopartículas.²⁹

9. 0 TIPOS DE NANOPARTÍCULAS

9. 1 Nanopartículas lipídicas sólidas

Como una aproximación a la nanotecnología farmacéutica, tecnológica e históricamente hablando, las partículas lipídicas sólidas o SLNs son la primera opción. Se han estudiado como alternativa a otros sistemas de dosificación menos robustos como los liposomas y las microemulsiones. Aunque su capacidad de carga de fármacos con liberación controlada parece ser limitada, sus características de transporte selectivo hacia ciertos órganos parece ser real, expresándose a través de diferentes variaciones tecnológicas como las nanopartículas lipídicas sólidas, los transportadores lipídicos nanoestructurados, nanopartículas recubiertas con lípidos y las nanopartículas lipídicas de conjugados. De las cuales aún falta por aprender para conocer su exacta dimensión en conformación, en sus características físicas, químicas y biológicas y en su aplicación a sistemas de suministro de fármacos. Entre sus principales

problemas de diseño se encuentra la estabilidad física, la cual se manifiesta como un aumento del tamaño de las partículas y la formación de geles. Los principales métodos utilizados para su caracterización incluyen a la calorimetría diferencial de barrido, a la resonancia magnética nuclear, a los rayos X, a la determinación del potencial zeta y a la determinación del tamaño de las partículas y de su distribución. Cada una de las técnicas de caracterización muestra rasgos particulares que se pueden considerar en buena parte complementarios unos de otros.⁴⁶

Las nanopartículas lipídicas fueron desarrolladas como un sistema de transporte alternativo a las emulsiones, liposomas y nanopartículas poliméricas. Se presentan estructuras nanoparticuladas basadas en lípidos sólidos tales como las “nanopartículas lipídicas sólidas” (SLN), “transportadores lipídicos nanoestructurados” (NLC), “nanopartículas recubiertas con lípidos” (LNPs) y los “conjugados de un lípido y un fármaco” (LDC).⁴⁶

Las nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) se desarrollaron a principios de 1990, como una alternativa a sistemas de fármacos como las emulsiones, liposomas y a las nanopartículas poliméricas. En la fabricación de las SLN se conjuntan las ventajas de las partículas sólidas con las de las emulsiones y las de los liposomas. Las SLN se han generado simplemente intercambiando el lípido líquido de las emulsiones por un lípido sólido, lo que significa que las SLN son sólidas a temperatura ambiente así como a la temperatura del cuerpo. Las nanopartículas lipídicas son consideradas como sistemas de liberación prolongada de un diámetro inferior a 1 μm , formas esféricas con un diámetro en una escala nanométrica que varía en extensión.⁴⁶

Las ventajas de la utilización de las nanopartículas lipídicas como transportadores incluyen la utilización de lípidos fisiológicamente aceptables para su preparación, la posibilidad de evitar el uso de solventes orgánicos en su preparación y un espectro de utilización amplio ya que se utilizan para la administración sobre la piel, por vía oral y por vía intravenosa. Además, se puede considerar que también sea una ventaja el que existan métodos de

fabricación bien establecidos como la homogeneización a presión elevada. Las nanopartículas lipídicas presentan una mejor biodisponibilidad, protegen las moléculas de fármacos susceptibles de degradarse bajo la influencia de agentes externos como la luz y el agua, y podrían ser de liberación prolongada para sustancias activas poco solubles en agua incorporadas en la matriz lipídica sólida. Aunque también se puedan utilizar con sustancias hidrofílicas, por ejemplo después de conjugación con un lípido. Entre sus desventajas estarían el crecimiento de las partículas durante su almacenamiento, una tendencia hacia una gelificación impredecible, cambios inesperados en sus transiciones polimórficas y su inherente baja capacidad de incorporación de los fármacos debido a la estructura cristalina del lípido sólido.^{47, 48}

Estructura de las SLNs

Las nanopartículas lipídicas poseen un núcleo sólido lipídico que puede solubilizar fármacos lipofílicos. El núcleo lipídico se estabiliza con tensoactivos o emulsificantes. Para su utilización con fines farmacéuticos todos los excipientes utilizados en su preparación deben ser generalmente reconocidos como materiales seguros (GRAS-Generally Recognized as Safe).⁴⁶

Transportadores lipídicos nanoestructurados

Una nueva generación de nanopartículas lipídicas sólidas son los transportadores lipídicos nanoestructurados (NLC). Estos sistemas de transporte de fármacos tendrían las mismas ventajas de las SLN. Sin embargo los NLC minimizan o evitan algunos posibles problemas asociados a las SLN. Entre estos posibles problemas se encuentran una baja capacidad de carga, segregación durante el almacenamiento y el alto contenido de agua de las dispersiones de las SLN. A diferencia de un estado al menos parcialmente cristalino de la fase lipídica en las SLN, en los NLC se presenta una matriz sólida lipídica menos ordenada. Esta circunstancia se considera un prerrequisito para aumentar la capacidad de carga de los fármacos en el seno de las nanopartículas.⁴⁹

Para la producción de los NLC se mezclan moléculas de lípidos estéricamente muy diferentes, mezclas de lípidos sólidos con lípidos líquidos o aceites. Las matrices obtenidas muestran puntos de fusión inferiores a los de los lípidos sólidos aunque la matriz sea aún sólida a temperatura ambiente. La idea fundamental es darle a las matrices lipídicas una nanoestructura en la que la carga del fármaco se aumenta y se evita la segregación durante el almacenamiento. Para este fin, se consideran 3 tipos de estructuras de los NLC: el tipo imperfecto, el tipo amorfo y el tipo múltiple.⁴⁶

El propósito original de los NLC fue evitar la recristalización tanto de la fase lipídica así como de sustancias activas cargadas en ellos, para prevenir la separación de los fármacos. Sin embargo, a estos transportadores también se les ha encontrado utilidad para la estabilización química de fármacos, para aumentar la solubilización de fármacos poco solubles y para facilitar la protección contra los rayos solares.⁵⁰

Partículas sólidas recubiertas con una capa lipídica sólida

Una estructura alternativa de presentación de una nanopartícula lipídica sólida son las partículas sólidas recubiertas con una capa lipídica sólida (LNPs). Las LNPs consisten de un núcleo formado por un fármaco de tamaño nanométrico, solo o acompañado de otros excipientes, el cual es recubierto con una capa de material lipídico, llegando a tamaños de hasta un micrómetro. Para su aplicación por vía pulmonar o para estudios de disolución, estas nanopartículas se dispersan en una solución de un tensoactivo (0.1 % p/v) como el poloxámero (Pluronic F68). El tensoactivo moja la superficie lipídica de las partículas permitiendo así la disolución del fármaco.⁵¹

Para que el fármaco pueda liberarse es necesario primero que el agua penetre el recubrimiento para disolver el fármaco y que después el fármaco disuelto pueda difundir a través del recubrimiento para alcanzar el medio acuoso circundante.⁴⁶

Entre las variables que determinan la velocidad de liberación desde estas LNPs se encuentran la composición del núcleo, el diámetro o tamaño del núcleo, la composición del recubrimiento y el grosor de la capa de recubrimiento.⁴⁶

Nanopartículas lipídicas de un conjugado

Las SLNs se consideran convenientes para la incorporación de fármacos muy lipofílicos, debido al proceso de partición durante la fabricación. Las nanopartículas formadas por un conjugado lípido-fármaco (LDCs) se desarrollan en parte para evitar esta limitación, se considera que podrían incorporar fármacos hasta con un 33% del peso total. Para esto se forma un conjugado del lípido con el fármaco que se prepara por formación de una sal (con un ácido graso) o por un enlace covalente (formando éteres o ésteres con un alcohol graso). El conjugado obtenido se procesa entonces en una solución acuosa de un tensoactivo hasta obtener nanopartículas.⁴⁶

La distribución en el cuerpo de las partículas lipídicas sólidas se considera que estaría influenciada por las interacciones con los componentes de la sangre. Dependiendo de las propiedades de las superficies de las partículas, las proteínas podrían absorberse con cierta preferencia cuando se incuban en suero o plasma. Dada esta circunstancia, este fenómeno podría utilizarse para la adsorción de proteínas del suero sobre conjugados de lípidos con fármacos (LDCs), lo que representaría una nueva opción para el transporte de fármacos. Los transportadores con diferentes características de adsorción de proteínas se podrían diseñar para interaccionar con receptores específicos de diferentes tejidos, o para ser reconocidos por diferentes subpoblaciones de macrófagos, que facilitarían un reconocimiento diferencial de las nanopartículas lipídicas. Las partículas lipídicas se modificarían en su superficie con elementos de direccionamiento hacia un órgano o tejido específico, por ejemplo al cerebro.⁵²

Los transportadores de fármacos en estado coloidal, sin modificación de su superficie, generalmente son retirados por los macrófagos del sistema fagocítico mononuclear. Esta circunstancia permite su rápida eliminación del sistema

circulatorio. La razón de su reconocimiento por el sistema fagocítico es que se adsorben componentes del plasma sobre la superficie del transportador tan pronto como estos entran en la circulación. Se ha encontrado que este proceso, conocido como opsonización, acelera la captura de los transportadores por las diferentes poblaciones de macrófagos. La composición de las proteínas del plasma adsorbidas es función de las características de la superficie de los transportadores. Se considera que el patrón de adsorción de los transportadores de fármacos sería la clave para determinar su distribución en el organismo.⁴⁶

Las SLNs modificadas en su superficie pudieran ser un sistema de transporte coloidal biodegradable eficiente para evitar el reconocimiento por el sistema fagocítico mononuclear.⁵³

Estabilidad de los fármacos en las SLNs

La estabilidad de los fármacos y su difusión a través de las SLNs son parámetros que determinan la velocidad de disolución. El efecto de estabilizadores como los tensoactivos iónicos (colato de sodio, dodecil sulfato de sodio, cloruro de cetilpiridinium) y los estabilizadores estéricos (tween 80, poloxámero 188, 407 y poloxamina 908) sobre la persistencia del Dynasan 114 es un ejemplo de la estabilidad química en las SLNs. En este caso, las SLNs estabilizadas con lecitina y colato de sodio muestran la mayor degradación, una degradación intermedia se observa con Tween 80 y una menor velocidad de degradación sería observada con el poloxámero de peso molecular elevado, el 407. Sin embargo, la velocidad de degradación, tal como podría esperarse, también se ve influida por el tamaño de partícula de las SLNs. De esta manera, se observa una menor velocidad de degradación en partículas de mayor tamaño (800 nm), en comparación con otras de menor tamaño (180-300 nm). El efecto del tamaño de las partículas es más notorio en SLNs que se degradan lentamente.⁵⁴

Estabilidad de las SLNs

La estabilidad fisicoquímica de los transportadores lipídicos muestra variaciones debidas a sus diferentes composiciones y diferentes estructuras. En las

dispersiones de partículas lipídicas con un intervalo de diámetro de nanómetros donde el principal o único componente es un lípido, es muy importante la estabilidad fisicoquímica. Para dicha estabilidad es de considerarse los mecanismos de desestabilización, las técnicas utilizadas para detectar la inestabilidad así como los agentes que inducen la desestabilización.⁵⁵

La selección de un tensoactivo adecuado o una mezcla de tensoactivos a concentraciones convenientes, contribuye a la estabilidad de las SLNs.⁴⁶

En los sistemas particulados para aplicación parenteral el sistema estabilizador debe mantener el estado coloidal para evitar la formación de agregados gruesos que pudieran llevar a efectos secundarios serios o aún fatales. En otras vías de administración como la oral y la dérmica la situación sería menos grave.⁴⁶

En las dispersiones, el tipo de tensoactivo puede influir la temperatura de cristalización de la fase dispersa. La temperatura de cristalización y las transiciones polimórficas son parámetros importantes para la preparación de nanopartículas de triglicéridos. La transición hacia un polimorfo más estable de los triglicéridos se acompaña de un rearrreglo de las moléculas y de un aumento en la densidad de la celda cristalina. El tipo de cristal que se obtiene así como la cinética de las transiciones pueden tener consecuencias importantes sobre la estabilidad de las dispersiones y sobre su capacidad para cargar fármacos.⁵⁶

Durante el almacenamiento de las dispersiones de SLNs, por periodos prolongados, podría ocurrir la agregación de las partículas. Las partículas individuales difunden en el medio de dispersión, provocando choques que pueden conducir a una floculación pericinética (el proceso se llama agregación pericinética cuando las colisiones son causadas por el movimiento browniano). En dispersiones con concentraciones elevadas de NLCs las partículas forman agregados en forma de redes de "hilos de perlas", que podrían mantener a las partículas en posiciones fijas, evitando los choques y la floculación pericinética. Después de la administración de las partículas y de su dilución en los fluidos biológicos la red se destruiría liberando las partículas individuales. Se ha

observado que dispersiones con 30% o menos de lípidos forman agregados durante su almacenamiento. Por otro lado, dispersiones con 35% de lípidos, las cuales forman dispersiones en forma de gel, se mantuvieron estables durante el almacenamiento. Cuando el gel se diluye libera partículas individuales, sin mostrar un incremento en su tamaño original.⁵⁷

Caracterización de las SLNs con el tamaño de partícula

Entre los factores más importantes que tienen un efecto significativo sobre la estabilidad de las SLNs tenemos al tamaño de las partículas. La espectroscopia de correlación de fotones (PCS) y la difracción láser (LD) son dos métodos comúnmente utilizados para determinar el tamaño y distribución de las SLNs. Estos métodos no miden directamente el tamaño de las partículas sino que más bien detectan los efectos de dispersión de luz los cuales son utilizados para calcular el tamaño de las partículas.⁴⁶

El índice de polidispersión PI es un parámetro para la amplitud de la dispersión de la distribución del tamaño de las partículas; para un sistema monodisperso su valor sería de cero.⁴⁶

El microscopio de fuerza atómica (AFM), o microscopio de fuerza de barrido (SFM) utiliza una sonda afilada para moverse sobre la superficie de una muestra en una forma tal que barre en forma de rastrillo. El AFM es adecuado para caracterizar nanopartículas. Tiene capacidad de visualización en 3 dimensiones así como capacidad para dar información tanto cualitativa como cuantitativa acerca de las propiedades físicas como el tamaño, morfología, textura y rugosidad de las superficies. También puede determinar información estadística acerca de la distribución del tamaño, del área superficial y del volumen. Se pueden caracterizar tamaños en un intervalo de 1 nm a 8 μm . Además, puede caracterizar nanopartículas en varios medios como el aire del medio ambiente, medios controlados y aun en dispersiones líquidas.⁵⁸

10.2 Nanosuspensiones

En los últimos años, las nanosuspensiones han sido objeto de numerosos estudios con el fin de evaluar sus propiedades biofarmacéuticas, demostrando en muchos casos valiosas ventajas frente a las formulaciones utilizadas convencionalmente. El uso de esta novedosa tecnología ha permitido el desarrollo de formas farmacéuticas para ser administradas por diferentes vías y también su aplicación ha demostrado ventajas en el desarrollo de estudios toxicológicos.⁵⁹

En formas farmacéuticas como las soluciones no existe consideración alguna en cuanto al proceso de disolución de un principio activo, mientras que en las formulaciones sólidas existe un impacto considerable de la desintegración, eventualmente, y de la disolución, en lo inherente a su biodisponibilidad.⁶⁰

Es sabido que sólo la fracción disuelta del principio activo estará disponible para ser absorbida, lo que constituye un problema debido a la gran cantidad de fármacos de escasa solubilidad en los fluidos biológicos en uso de la terapéutica actual, sin contar los numerosos fármacos en estudio que también pertenecen a esta clase.⁶¹

Las nanosuspensiones (NSs), como su nombre lo indica, son dispersiones de partículas nanométricas en un medio adecuado, por ejemplo agua. Este tipo de formulaciones mejoran la solubilidad de los principios activos y brindan mejores velocidades de disolución, pudiendo complementar, a su vez, otras tecnologías usadas para mejorar la biodisponibilidad de compuestos poco solubles (Clase II y IV del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica, SCB). Las NSs pueden ser luego transferidas a un producto sólido a través de procesos de spray-drying, liofilización o usando la NS como agente humectante en un proceso de granulación húmeda, para la formulación de pellets o comprimidos.⁶²

Métodos de obtención de NSs

Las técnicas de obtención de NSs pueden agruparse en dos grandes grupos: las técnicas bottom-up (precipitación/cristalización controlada, el cristal se forma a partir de un núcleo de moléculas e incrementa su tamaño) y las técnicas top-down (las partículas se reducen en tamaño), siendo estas últimas las más usadas. Existe también la posibilidad de combinar de manera secuenciada este tipo de técnicas.⁶³

Técnicas bottom-up

➤ Nanoprecipitación

Este método implica la formación de partículas nanométricas, cristalinas o semi-cristalinas, por nucleación y crecimiento del cristal del principio activo. En un proceso convencional, el PA liposoluble se disuelve en un solvente orgánico apropiado, el cual se agrega posteriormente a un antisolvente (incluyendo estabilizantes adecuados) para la formación de los nanocristales. La elección de los solventes y estabilizantes, así como los parámetros del proceso de mezcla (temperatura, velocidad de agitación y velocidad de incorporación del PA solubilizado), son los factores que controlan el tamaño de partículas y la estabilidad del nuevo sistema.⁶⁴

➤ Preparación mediante el empleo de emulsiones/microemulsiones

Esta metodología es aplicable para PAs que sean solubles tanto en solventes orgánicos volátiles como en solventes parcialmente miscibles en agua. Existen dos métodos para formular NSs mediante esta técnica. En el primero, el solvente orgánico o una mezcla de solventes, con el PA incorporado, se dispersa en la fase acuosa que contiene los estabilizantes adecuados para formar una emulsión. La fase orgánica se evapora en condiciones de baja presión y, de esa manera, los cristales precipitan inmediatamente formando la NS. El segundo método hace uso de solventes parcialmente miscibles con el agua como fase dispersante, tales como butil lactato, alcohol bencílico y triacetina. La emulsión

se forma de manera convencional y, posteriormente, mediante una adecuada dilución, se obtiene la NS. La dilución con agua de la emulsión induce la completa difusión de la fase interna hacia la externa, dando como resultado la formación de una NS.⁶⁵

Las microemulsiones también pueden ser empleadas como medio para obtener nanopartículas. Estas son dispersiones termodinámicamente estables de dos líquidos inmiscibles, estabilizados por una película interfacial formada por un tensoactivo y un co-tensoactivo. En este caso, el PA puede ser cargado en la fase interna, o pueden saturarse con el mismo microemulsiones preformadas mediante mezclado absoluto. Con el mismo mecanismo mencionado anteriormente, una correcta dilución de la microemulsión da como resultado la obtención de una NS.⁶⁶

Técnicas top-down

➤ Homogeneización de alta presión (HAP)

Los procesos básicos usados son el sistema Microfluidizer (IDD-P™), basado en el principio de corriente en chorro, y la homogeneización mediante un sistema de pistón-ranura, ya sea en medio acuoso o alternativamente en un medio de baja proporción acuosa o no acuoso. Las fuerzas de cavitación generadas a altas presiones y la colisión entre partículas dan como resultado la disminución del tamaño de partícula.⁶⁷

En general, los parámetros que tienen influencia sobre la calidad de los productos obtenidos por esta técnica son cuatro:⁶⁸

- Combinación de estabilizantes y su concentración
- Número de ciclos de homogeneización
- Porcentaje de contenido de sólidos
- Presión de homogeneización

➤ **Molienda**

Estos son los de mayor trayectoria en la producción de nanocristales. Existe también la posibilidad de efectuar la molienda en condiciones secas, incluso se han utilizado antes que las técnicas por vía húmeda. Presentan la ventaja de prescindir de los solventes orgánicos, además de poder llevarse a cabo de manera fácil y económica.⁶⁹

Caracterización de las NSs

➤ **Tamaño de partícula e índice de polidispersidad**

El diámetro medio de las nanopartículas y su distribución (índice de polidispersidad-IP), suelen medirse mediante espectroscopía de correlación de fotones (ECF). El intervalo de medición de la ECF se halla entre 3 nm y 3 μm . Para detectar partículas de tamaño micrométrico o agregados de nanopartículas suele emplearse también la difracción láser (DL), ya que permite medir tamaños entre 1 μm a 1 mm. Las NSs destinadas a ser administradas por vía I. V., además, son analizadas mediante un contador Coulter.⁷⁰

Otras técnicas empleadas para la caracterización de este parámetro son la microscopía electrónica de barrido y la microscopía de fuerza atómica.⁷¹

➤ **Carga de la partícula (potencial zeta)**

La carga de la partícula es un parámetro significativo para la estabilidad de las NSs acuosas. Se caracteriza mediante combinación de electroforesis y velocimetría láser Doppler, y se expresa comúnmente como movilidad electroforética [$(\mu\text{m}/\text{S})/(\text{V}/\text{cm})$] o convertida a potencial zeta (mV).⁷²

➤ **Estado cristalino**

La estructura cristalina de las NSs puede ser evaluada mediante calorimetría diferencial de barrido (CDB) y difracción de rayos X (DRX). Esto es sumamente importante cuando el PA estudiado presenta polimorfismo.⁷³

Los procesos de obtención del material sólido, como el secado por spray, son una estrategia habitual para mejorar la estabilidad física y química de las NSs. Durante este tipo de procesos, se requiere mucho menos energía para la formación de un estado amorfo que para uno cristalino. Obtener un estado parcial o completamente amorfo de los PA insolubles en los nanocristales, teóricamente, es un método que permite mejorar la velocidad de disolución. Sin embargo, las moléculas en estado amorfo son termodinámicamente inestables, comparando con los estados cristalinos, y por lo tanto es factible su transformación. Por lo tanto, la conversión entre estas formas puede inducir alteraciones en la solubilidad y, consecuentemente, en los efectos terapéuticos.⁷⁴

➤ **Velocidad de disolución y solubilidad de saturación**

La determinación de la solubilidad de disolución es sumamente importante para asegurar los beneficios que presentan este tipo de formulaciones con respecto a las convencionales. Para ello se pueden emplear los métodos descritos en las diferentes Farmacopeas, para luego, mediante el tratamiento matemático apropiado, determinar la velocidad de disolución.⁷⁵

Evaluación biofarmacéutica de NSs

NSs para estudios toxicológicos

Los estudios toxicológicos que requieren altas dosis suelen ser un desafío durante el desarrollo de compuestos poco hidrosolubles, ya que la absorción está limitada por la baja solubilidad a las dosis utilizadas en este tipo de ensayos. Cabe señalar que el marcado incremento en la exposición sistémica que se logra con las NSs, puede conducir a una significativa reducción en la cantidad de principio activo que se requiere para los estudios toxicológicos, en los que las dosis pueden ir más allá de los 1000 mg/Kg/día y los estudios pueden durar hasta dos años.⁷⁶

El aporte de las NSs en el desarrollo de estudios toxicológicos, permite disminuir de manera notable la relación fármaco administrado-fármaco absorbido. Al

aumentar la biodisponibilidad del PA, los efectos tóxicos pueden ser estudiados disminuyendo las dosis requeridas.⁷⁷

Los beneficios de las NSs en las formulaciones farmacéuticas se traducen en un notable avance en el comportamiento de las mismas, en aspectos tales como velocidad de disolución mejorada, aumento de la solubilidad, incremento de permeación en las membranas, reproducibilidad de la absorción oral, mejor relación dosis-biodisponibilidad y un progreso hacia el óptimo cumplimiento terapéutico por parte del paciente, debido a la reducción del número de dosis requeridas por día. El tamaño óptimo de partícula de una NS dependerá de la naturaleza del PA, su aplicación farmacéutica y las propiedades biofarmacéuticas deseadas; no debiendo generalizarse que “a menor tamaño de partícula siempre es mejor”. Estas novedosas formulaciones son una estrategia útil también en los aspectos farmacotécnicos para la obtención de derivados que pueden formar parte de las formulaciones convencionales, mejorando los aspectos biofarmacéuticos también en estos últimos casos. Como se ha visto, los beneficios de las NSs pueden ser aprovechados en la administración de medicamentos por las vías comúnmente empleadas y permiten la incorporación de nuevos PAs, o bien mejorar de manera notable el tratamiento con agentes terapéuticos de efectividad comprobada en uso actualmente.⁷⁸

10.3 Nanopartículas a base de polisacáridos: Quitosano

Los polisacáridos son los polímeros naturales más versátiles debido al amplio espectro de propiedades químicas, físicas y funcionales que confluyen en los organismos vivos, tales como conferir estructura, almacenar energía y otras funciones mucho más especializadas, tales como reconocimiento y adhesión en células eucariontes, señalización y activación de procesos de resistencia en plantas, formación de biopelículas en microorganismos, entre otras.⁷⁹

Es especialmente relevante que algunos de estos biopolímeros combinan propiedades fisicoquímicas como la capacidad de formar sistemas tipo

hidrogeles, micro y nanopartículas, con propiedades biológicas como la bio y mucoadhesividad que en su conjunto los hacen particularmente atractivos en la ingeniería y diseño de materiales empleados en ciencias de la salud.⁷⁹

Las propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas de sistemas de nanopartículas a base de quitosano y de quitosano combinado con oligo y polisacáridos que abarcan los siguientes componentes: ciclodextrinas, alginato, ácido hialurónico y glucomanano.⁷⁹

Estos sistemas actualmente tienen alto potencial para el desarrollo de una nueva generación de nanopartículas coloidales poliméricas que factiblemente se convertirán en nanomedicinas innovadoras para la administración de fármacos vía transmucosa.⁷⁹

Nanopartículas constituidas por quitosano

Generalidades sobre el quitosano

El quitosano es un aminopolisacárido obtenido a escala industrial por N-desacetilación termoalcalina de la quitina aislada de los desechos de crustáceos. A lo largo de la década pasada el quitosano se ha utilizado ampliamente en el desarrollo de sistemas potencialmente innovadores para la liberación de fármacos e ingeniería de tejidos y comercialmente en la manufactura de parches cicatrizantes (e. g. HemCon[®]). Más del 50% del número total de solicitudes de patentes registradas en 2006 que reivindican el uso de este biopolímero como una parte sustancial de la invención están relacionadas con la liberación de fármacos, ingeniería de tejidos y cicatrización de heridas.⁸⁰ Actualmente estos son los nichos de mercado de mayor crecimiento en el mundo.⁸¹

Desde el punto de vista fisicoquímico, el quitosano es un biopolímero hidrosoluble que puede formar películas, hidrogeles, andamios porosos, fibras, micro y nanopartículas en condiciones y medio ácido suaves. Además, el carácter policationico le confiere al quitosano alta afinidad para asociar

macromoléculas terapéuticas (p. ej. insulina, pADN, siARN, heparina, etc.) y antigénicas, a las cuales protege de la degradación enzimática e hidrolítica.⁷⁹

El quitosano se ha utilizado ampliamente en la industria de alimentos y está aprobado como aditivo en Japón. Se comercializa en Europa, EUA y en otros países como un atrapador de grasa en formulaciones para reducir el colesterol y el sobrepeso, se ha evaluado en ensayos clínicos como potenciador de la penetración de fármacos por vía nasal⁸² y como excipiente farmacéutico.⁸³

Se sabe que el quitosano es degradado por varias enzimas, entre ellas las quitinasas y la lisozima presente en superficies mucosas y en suero humano⁸⁴⁻⁸⁷, así como por enzimas gástricas como la papaína, pepsina, y lipasa A.⁸⁸ Otras propiedades biológicas han sido ampliamente estudiadas en el quitosano, tanto in vitro como en modelos animales, entre ellas cabe mencionar las siguientes: mucoadhesividad^{89, 90}, biocompatibilidad^{85, 91}, baja toxicidad⁹², inmunoestimulación⁹³⁻⁹⁶, capacidad para facilitar la absorción de macromoléculas biológicas a través de barreras epiteliales por la apertura transitoria de las uniones estrechas celulares.⁹⁷⁻¹⁰¹ Por otra parte, a lo largo de la pasada década se ha dedicado un gran esfuerzo al estudio de las modificaciones químicas del quitosano para, de este modo, explorar su máximo potencial de aplicación. Entre los principales productos derivados, merecen especial mención quitosano trimetilado, tiolado, N, O-carboximetilado y el injertado con polietilenglicol (PEG), los cuales exhiben propiedades mejoradas para el desarrollo de aplicaciones farmacéuticas.¹⁰²⁻¹⁰⁴ Estas modificaciones son determinantes no sólo en el patrón de solubilidad del quitosano, sino en sus propiedades biológicas y funcionales.¹⁰⁵⁻¹⁰⁸

Metodologías y parámetros críticos de producción de nanopartículas de quitosano

Las nanopartículas a base de quitosano se forman de acuerdo a una aproximación de tipo “bottom-up” como resultado de procesos de auto-asociación o entrecruzamiento en virtud de los cuales las cadenas poliméricas se

ordenan en estructuras nanoscópicas ya sea por interacciones inter o intramoleculares de tipo covalente o no covalente. En estas nanopartículas o nanoesferas el fármaco puede ser atrapado o ligado a la matriz polimérica sólida (o semi-sólida).⁷⁹

Es importante señalar que a pesar de la diversidad de métodos documentados y agentes químicos disponibles para obtener nanopartículas a base de quitosano, sólo unos cuantos de estos ofrecen potencial real para el desarrollo de aplicaciones farmacéuticas debido al estricto marco regulatorio que deben cumplir los excipientes para la liberación de fármacos. Dentro de los que mayor atención han recibido, destacan aquellos basados fundamentalmente en el principio de la gelificación iónica del quitosano utilizando tripolifosfato pentasódico (TPP).¹⁰⁹

Entre las ventajas de este sistema cabe destacar que evita el uso de altas temperaturas, solventes orgánicos o procesos drásticos como la sonicación, que unido a la naturaleza policatiónica del quitosano le confieren a estos sistemas la capacidad para asociar de forma eficiente y preservar la estabilidad y bioactividad de macromoléculas terapéuticas contra su degradación. Este sistema ha mostrado alta capacidad de carga de péptidos y proteínas hidrofílicas tales como insulina¹¹⁰⁻¹¹⁴, albúmina sérica de bovino^{115, 116} y toxoide tetánico.¹¹⁴ La capacidad de carga se ve principalmente afectada por la solubilidad y el pI de la proteína, la carga teórica de esta¹¹⁵, pH¹¹² y por el peso molecular del quitosano.¹¹⁴ Otras macromoléculas que se han cargado exitosamente en prototipos de estas nanopartículas incluyen: pDNA¹¹⁷, heparina¹¹⁸, β -lactoglobulina¹¹⁹ y péptidos hidrófobos como la ciclosporina A (CyA).^{120, 121} Moléculas pequeñas hidrófilas como glicirrizinato de amonio (fármaco antiinflamatorio)¹²² también han sido asociadas a estos sistemas.

Propiedades de liberación de fármacos y aplicaciones biofarmacéuticas de nanopartículas de quitosano

Habida cuenta de sus propiedades fisicoquímicas y biológicas, el quitosano se ha utilizado en investigación farmacéutica centrada en el desarrollo de vehículos nanoparticulares innovadores. En este sentido, son de destacar en estos sistemas tanto la capacidad para proteger macromoléculas bioactivas frente a la degradación, como la habilidad para transportarlas a través de las barreras de las mucosas. En consecuencia, su aplicación se ha enfocado al desarrollo de nanovehículos aptos para la administración por vías no invasivas, tales como las mucosas ocular, nasal y oral.¹²³⁻¹²⁶ Adicionalmente, estudios recientes han demostrado la factibilidad de incorporar nanopartículas de quitosano-TPP en micropartículas a base de manitol secadas por aspersion para la administración por vía del epitelio pulmonar.¹²⁷

Nanopartículas híbridas a base de quitosano y otros oligo y polisacáridos

La base racional para la incorporación de dichos componentes en las nanopartículas ha sido el buscar mejorar la interacción con barreras mucosas y por tanto incrementar la biodisponibilidad de macromoléculas terapéuticas al administrarlas por vía transmucosa.⁷⁹

Nanopartículas quitosano-ciclodextrinas

Las ciclodextrinas (CD) son oligosacáridos cíclicos, producidos a partir de la amilosa y constituidos por 6, 7 u 8 unidades (α -, β - o γ -ciclodextrinas, respectivamente) de D-glucosa articuladas por enlaces $\alpha(1 - 4)$. Las CDs poseen una cavidad interior lipofílica y una superficie externa de naturaleza hidrofílica. Esta estructura molecular característica confiere a las CDs la capacidad para albergar en su interior a moléculas (generalmente de naturaleza hidrófoba) dando lugar a complejos de inclusión que presentan una serie de ventajas en formulaciones farmacéuticas, que incluyen: protección contra la degradación física, química y enzimática; estabilización y aumento de la solubilidad; control de la liberación; reducción de la irritación y enmascaramiento de sabores y

olores desagradables.¹²⁸ En el caso de macromoléculas, su tamaño e hidrofilia previenen que sean incluidas en su totalidad en el interior de la cavidad de las CDs. No obstante, se ha descrito que pueden hacerlo parcialmente por vía de interacciones de sus cadenas hidrófobas¹²⁹, siendo esta inclusión parcial suficiente para mejorar la estabilidad.¹³⁰ Otras propiedades ventajosas descritas para las ciclodextrinas, incluyen la habilidad para inhibir la función de la glicoproteína-P, así como de incrementar la permeabilidad de los epitelios.¹³¹ Algunas ciclodextrinas han demostrado ser altamente efectivas como promotoras de la absorción de macromoléculas, tales como la insulina o calcitonina, a través del epitelio nasal¹³² y pulmonar.¹³³

Otra ventaja importante a resaltar sobre las CDs es el alto grado de conocimiento existente acerca de sus propiedades farmacéuticas y toxicológicas. Las β -CDs naturales ya han sido aprobadas en EUA como excipiente GRAS. Por otra parte, mediante modificación química, las CDs naturales son sustituidas en los grupos hidroxilos con grupos metilo, hidroxipropil, carboximetil o sulfobutil éster, de forma que se han obtenido derivados aniónicos más hidrosolubles e incluso con mejores perfiles de toxicidad que las ciclodextrinas sin modificar. En la actualidad se comercializan varios derivados de CDs en diferentes formulaciones y para distintas vías de administración.¹³⁴

Habida cuenta de las ya mencionadas ventajas que exhiben las CDs por sí mismas como excipientes farmacéuticos, estas han sido incorporadas en partículas nanométricas como una estrategia para diseñar sistemas de liberación versátiles capaces de encapsular fármacos con diferentes propiedades fisicoquímicas. El abordaje más común en este sentido, ha consistido en la incorporación de complejos de inclusión fármaco-CD previamente formados en nanopartículas poliméricas. La presencia de CDs en estos sistemas resulta generalmente en un incremento de la carga de fármaco.^{135, 136}

Las nanopartículas de quitosano-CD pueden prepararse utilizando la técnica basada en el concepto de gelificación ionotrópica aplicado a quitosano.¹⁰⁹ Brevemente, estos sistemas se forman debido al ensamblado en forma de

estructuras nanométricas del quitosano al interactuar con un agente reticulante. Dicho agente reticulante puede ser, o bien TPP o la propia CD¹³⁷, en dependencia de la carga eléctrica de la CD elegida. En el caso de CD con bajo grado de sustitución por grupos aniónicos, se precisa el uso de TPP para promover la gelificación del quitosano. En contraste, la incorporación de CD con un elevado grado de sustitución con grupos aniónicos está mediada por la interacción electrostática con el quitosano y las CDs por sí mismas pueden actuar como agentes reticulantes.⁷⁹

Tal como sucede con las nanopartículas compuestas únicamente por quitosano, el tamaño de aquellas que incorporan CD varía en dependencia de los parámetros de formulación, tales como el grado de acetilación y peso molecular del quitosano y la relación de masa entre el quitosano y la CD. En general, la incorporación de CD tiene un efecto moderado sobre las características físicas de las nanopartículas resultantes.⁷⁹

Las nanopartículas de quitosano-CD han sido evaluadas en su habilidad para cargar fármacos con propiedades fisicoquímicas diversas incluyendo tanto sustancias de muy baja solubilidad como macromoléculas. Por ejemplo, fármacos altamente hidrófobos como el triclosan y la furosemida pueden incorporarse satisfactoriamente en este tipo de nanopartículas gracias a su inclusión previa en la cavidad de la CD.¹³⁸ En estudios posteriores, se ha demostrado que las nanopartículas de quitosano-CD son aptas para cargar muy eficientemente diversos tipos de macromoléculas terapéuticas tales como heparina¹¹⁸, insulina¹³⁹ y pDNA.¹⁴⁰ Por tanto, esta nueva clase de nanopartículas híbridas ofrece ventajas específicas cuando se compara con las nanopartículas formadas únicamente por quitosano.

Propiedades de liberación de fármacos y aplicaciones biofarmacéuticas de nanopartículas de quitosano-ciclodextrinas

Los estudios *in vivo* consistieron en la administración nasal a conejos de las formulaciones de nanopartículas de quitosano-CD conteniendo insulina, así

como de un control constituido por el péptido en solución.¹³⁹ Los resultados obtenidos mostraron que las nanopartículas produjeron un descenso máximo de los niveles de glucosa plasmática equivalente a un 35% del valor basal, frente a sólo un 14% producido por la administración de una dosis idéntica de insulina en solución (5 UI/Kg). No se apreciaron diferencias entre el efecto hipoglucémico inducido por los diferentes sistemas (quitosano-CM- β -CD y quitosano SBE- β -CD) y la efectividad no se vio influenciada por la cantidad de quitosano ni CD presente en la formulación. En base a estos resultados, se han sugerido dos mecanismos por los que los sistemas de nanopartículas quitosano-CD son capaces de incrementar la absorción sistémica de insulina. Por un lado, las nanopartículas se adhieren al epitelio nasal, donde gracias a sus componentes (quitosano y CD), actúan como promotores de la absorción mediante la apertura de las uniones estrechas intercelulares y, simultáneamente, liberan la insulina, que a su vez ve facilitado su paso por vía paracelular. Y por otro lado, tal vez en modo minoritario, las nanopartículas pueden ser internalizadas y atravesar el epitelio nasal por vía transcelular, actuando como verdaderos nanovehículos de macromoléculas.⁷⁹

Nanopartículas quitosano-alginato

El alginato es otro polisacárido obtenido principalmente a partir de algas marinas marrones y que ha atraído especial interés en el campo biomédico a lo largo de la última década.¹⁴¹ Químicamente, es un copolímero constituido por poli-D-manuronato (poli-M) y poly-L-guluronato (poli-G) homopoliméricos y por bloques donde ambos residuos ocurren alternadamente. La composición de la cadena de alginato, resumida en el valor de la relación de la fracción molar de residuos de D-manuronato a L-guluronato (ratio M/G) es determinante en las propiedades fisicoquímicas y funcionales del alginato.⁷⁹

Con base a esta capacidad de formar hidrogeles y de la demostrada biocompatibilidad del alginato, se ha utilizado ampliamente en el diseño e ingeniería de biomateriales.¹⁴² Adicionalmente, desde hace casi cuatro décadas se le han atribuido al alginato propiedades bioadhesivas.^{143, 144} Sin embargo,

sólo recientemente dichas propiedades se han explotado en formulaciones para el tratamiento de desórdenes del tracto esofágico superior como el reflujo¹⁴⁵, que son condicionantes del síndrome de Barret, el cual a su vez es precursor del adenocarcinoma de esófago.¹⁴⁶

Dado que las propiedades fisicoquímicas y biológicas del alginato en cierta medida son complementarias a las del quitosano, se ha investigado el desarrollo de sistemas nanoparticulares a base de ambos polisacáridos. Se han descrito a menos tres distintas estrategias metodológicas para preparar nanopartículas de este tipo.¹⁴⁷

Nanopartículas de alginato pregelificado recubiertas con quitosano

Un proceso consistente en dos etapas ha sido descrito en virtud del cual el alginato es pregelificado en presencia de cloruro cálcico bajo sonicación para obtener un nanogel el cual es posteriormente recubierto con quitosano.¹⁴⁸ En general, el uso de polímeros de bajo peso molecular conduce a partículas de menor tamaño (~338-415 nm) independientemente de la relación de masa alginato/quitosano.⁷⁹

Nanopartículas de quitosano coacervado recubiertas con alginato

Un segundo protocolo de preparación consistente en tres etapas ha sido descrito para la preparación de nanopartículas cargadas con proteína y optimizado como una plataforma para la cesión de antígenos.¹⁴⁹ Para este propósito, nanopartículas de quitosano son inicialmente preformadas al mezclar una solución de sulfato sódico en una de quitosano en presencia de un surfactante (Tween 80) bajo agitación suave y sonicación. Las partículas aisladas fueron liofilizadas y resuspendidas en un tampón de fosfato (pH 7.4) e incubadas en disoluciones de ovoalbúmina de concentración variable. Posteriormente, la suspensión coloidal fue añadida sobre soluciones de alginato de concentración variable para finalmente reticular la recubierta de alginato con cloruro cálcico. Este protocolo conduce a la obtención de nanopartículas de tamaño en el rango de 100 a 1000 nm con potencial zeta marcadamente negativo (~-35mV) y la

eficacia de asociación de ovoalbúmina fue de 40%. La recubierta de alginato se encontró que confiere estabilidad a las nanopartículas en fluido intestinal simulado (pH 6.8) a 37°C y en consecuencia se previene la liberación tipo “burst” de la ovoalbúmina.⁷⁹

Nanopartículas cogelificadas híbridas de quitosano-alginato

Recientemente hemos descrito un nuevo tipo de sistema nanoparticulado híbrido formado en una sola etapa por la gelificación ionotrópica del quitosano con TPP concomitante a la complejación con alginato.¹⁵⁰ Para ello, se utilizó alginato con pesos moleculares en el rango 4 a 32 kDa y una relación de masa alginato/quitosano de 0.1:1. El tamaño de las nanopartículas obtenidas estuvo en un rango de 247 – 359 nm, tuvieron una polidispersión relativamente elevada (PI<0.36) y un potencial zeta de +43.1 ±4.0 mV. Estas nanopartículas permanecen estables en tampón acetato (pH 4.3) a 37°C durante ~20 min, independientemente del peso molecular del alginato.⁷⁹

Propiedades de liberación de fármacos y aplicaciones biofarmacéuticas de nanopartículas de quitosano-alginato

El sistema de nanopartículas de alginato pregelificadas ionotrópicamente y recubiertas con quitosano ha sido aplicado para la administración oral de insulina¹⁵¹, consiguiendo más de un 70% de eficacia de asociación. Los resultados obtenidos permitieron demostrar que la difusión de insulina se ve retardada por el complejo formado entre quitosano y alginato. Adicionalmente, la estructura secundaria de la insulina atrapada en la matriz de este sistema se conserva durante el proceso de preparación y liberación.¹⁵² Estudios hechos en rata diabética revelaron que la administración oral de estas partículas consigue reducir en un 40% los niveles de glucosa en plasma con respecto a los valores basales con dosis de 50-100 UI/Kg y mantienen la hipoglucemia durante un período superior a 18 h.¹⁵¹

A su vez, nanopartículas cogelificadas de quitosano-TPP con alginato han sido evaluadas como vehículos para la administración nasal de insulina en conejos.

Los resultados mostraron que estas nanopartículas fueron capaces de facilitar el transporte de insulina a través de la mucosa nasal, y de promover una absorción significativa (equivalente a una reducción de 40% de los niveles plasmáticos de glucosa) durante un período que se prolongó durante varias horas.¹⁵⁰

Nanopartículas de quitosano-ácido hialurónico

Junto con el quitosano y el alginato, el ácido hialurónico (también llamado hialuronán) es el otro polisacárido principal que se ha considerado como base para el desarrollo de aplicaciones biomédicas. El ácido hialurónico es un aminopolisacárido que existe en la matriz extracelular de los tejidos conectivos de animales vertebrados. El ácido hialurónico tradicionalmente se extrae del humor vítreo de bovinos, de la cresta de gallos o de cordones umbilicales. El mismo polisacárido se produce actualmente a gran escala a partir de las bacterias *Streptococcus zooepidermicus* y *Streptococcus equi*, con lo cual el precio ha disminuido notablemente y por tanto el número de aplicaciones ha ido en aumento.¹⁵³ El ácido hialurónico se considera no sólo un excipiente farmacéutico sino un fármaco. Su biocompatibilidad y propiedades viscoelásticas son la base de su utilización en oftalmología, dermatología y en el tratamiento de la osteoartritis. Desde un punto de vista biofarmacéutico, el principal interés se ha centrado en sus propiedades bio y mucoadhesivas, particularmente debido a los receptores celulares CD44 hacia este polisacárido que ocurren en las barreras biológicas.^{154, 155}

El quitosano y el ácido hialurónico han sido asociados conjuntamente en nanopartículas híbridas cogelificadas con el propósito de mejorar las propiedades para el transporte de macromoléculas.¹⁵⁶ Esto se ha conseguido por el proceso de gelificación ionotrópica del quitosano descrito anteriormente para sistema quitosano-alginato. Este tipo de nanopartículas se forman por el mezclado simple de una disolución acuosa de quitosano con otra de ácido hialurónico en presencia de TPP. La incorporación de ácido hialurónico ha sido demostrada por medio de electroforesis en gel de agarosa y la estabilidad al ser incubadas en fluido lacrimal simulado fue estudiada durante un período de 24 h.

las nanopartículas se forman a una relación de masa de ácido hialurónico/quitosano en el rango de 0.1:1.0 a 1:1. Ambas concentraciones, la de ácido hialurónico y la de TPP, afectan directamente al tamaño de partícula. Estas nanopartículas, al igual que las cogelificadas a base de quitosano-alginato, presentan un potencial zeta positivo que fluctúa en el rango $\sim +30$ - $\sim +40$ mV. En general, el aumento de la cantidad de ácido hialurónico conduce a una reducción en los valores de potencial zeta, lo que ha sido interpretado como la consecuencia esperada de la localización preferente de las cadenas de ácido hialurónico sobre la superficie de las nanopartículas.⁷⁹

Propiedades de liberación de fármacos y aplicaciones biofarmacéuticas de nanopartículas de quitosano-ácido hialurónico

Nanopartículas a base de quitosano-ácido hialurónico se han cargado con albúmina de suero bovino (ASB), insulina, péptidos hidrofóbicos tales como la CyA y con plásmido que codifica la expresión de proteína fluorescente verde (pEGFP-C1). En todos los casos, la eficacia de asociación es muy alta ($\sim 90\%$) y muy similar a la evaluada en nanopartículas a base de quitosano sólo. En el caso de la eficacia de asociación de ASB, se ha encontrado que la presencia de ácido hialurónico no presenta influencia sobre este parámetro. Esto ha sido explicado con base a la interacción entre ASB y el ácido hialurónico mediada por asociación hidrofoba, puentes de H y otras fuerzas intermoleculares.¹⁵⁷ Por su parte, la CyA también ha sido incorporada en este sistema, como modelo de polipéptido notablemente hidrófobo, carga eléctrica neutra, carácter lipofílico y que es ampliamente utilizado en terapia y como agente inmunosupresor. Esto se hizo teniendo en cuenta estudios previos en los cuales se demostró que la coadministración intravenosa de CyA y ácido hialurónico conlleva a un aumento de cuatro veces en el efecto inmunosupresor del péptido¹⁵⁸, un efecto atribuido a la interacción del ácido hialurónico con el receptor CD44 antes mencionada. Por su parte, la utilidad del sistema quitosano-ácido hialurónico para mejorar la biodisponibilidad de CyA posterior a la administración por vía oral¹²¹ y ocular¹²⁰ ha sido demostrada. Las ventajas biofarmacéuticas de las nanopartículas a base

de quitosano y ácido hialurónico, le hacen un excelente candidato para la liberación de macromoléculas terapéuticas por vía transmucosa.⁷⁹

En lo que a las propiedades biofarmacéuticas de este sistema se refiere, vale la pena resaltar su baja citotoxicidad independientemente del peso molecular de los polisacáridos. Aun a dosis de nanopartículas de 154 mg/cm² la viabilidad celular se mantuvo por encima de 80%. Esto representa una mejora substancial sobre las nanopartículas a base de quitosano únicamente (18-36 mg/cm²) en la misma línea celular. La disminución en citotoxicidad se ha atribuido a la presencia de ácido hialurónico, debido a su elevada biocompatibilidad e implicación en procesos biológicos tales como adhesión celular y proliferación, entre otros.⁷⁹ Los ensayos de eficacia de transfección in vivo llevados a cabo con este sistema, han mostrado que es efectivo para transfectar células de córnea y conjuntiva después de la administración tópica en conejos.¹⁵⁹

Nanopartículas de quitosano-glucomanano

Otro polisacárido que se ha identificado con propiedades muy atractivas para la formulación de nanopartículas a base de quitosano es el glucomanano de konyac (*Amorphophalus konjac*), un tubérculo comestible en Asia. El uso de este polisacárido está aprobado en alimentos y medicamentos en Europa, EUA y Asia. En contraste con quitosano, alginato y ácido hialurónico que contienen grupos con carga eléctrica en su estructura, el glucomanano natural es un polisacárido neutro, aunque también está disponible comercialmente el derivado fosforilado. La principal propiedad biofarmacéutica que da cuenta del potencial del glucomanano en el desarrollo de sistemas nanoparticulares para liberación de fármacos es su alto contenido de D-manosa, que le confiere la capacidad para interactuar con superficies biológicas que contienen receptores de manosa, tales como las células M de las placas de Peyer y los macrófagos.¹⁶⁰

Las nanopartículas de quitosano-glucomanano se pueden formar ya sea en presencia o en ausencia de TPP, y con glucomanano nativo neutro o el derivado fosforilado.^{161, 162} Ha sido posible también preparar nanopartículas de quitosano-

TPP recubiertas con el glucomanano derivatizado. En general, estas nanopartículas ofrecen varias ventajas tecnológicas, que incluyen poder ser liofilizadas en ausencia de agentes crioprotectores así como presentar mayor estabilidad en medios de alta fuerza iónica similares a los encontrados en condiciones fisiológicas (tampón PBS pH 7.4) que las nanopartículas de quitosano-TPP.¹⁶¹

Las nanopartículas a base de quitosano y glucomanano fueron concebidas con la idea de optimizar el comportamiento de las nanopartículas de quitosano-TPP al potenciar la absorción de insulina administrada por la vía oral. Para ello se evaluó la eficacia de este sistema en ratas normoglucémicas. La presencia del glucomanano en la nanoestructura fue crítica para obtener una reducción de 50% en los niveles séricos de glucosa. Fue además interesante que la respuesta hipoglucémica apareció 14 h posterior a la administración y se mantuvo durante un período de > 10 h. El papel del glucomanano en potenciar la interacción de las nanopartículas con el epitelio intestinal ha sido investigado en estudios subsecuentes in vitro utilizando un co-cultivo de células Caco-2 y Raji como modelo de células M. Estos estudios revelaron que la presencia del glucomanano potencia drásticamente la captura de nanopartículas por las células M con respecto a las nanopartículas de quitosano.⁷⁹

A mediano plazo, es de esperar que sistemas nanoscópicos avanzados de liberación de fármacos a base de quitosano cogelificado con otros polisacáridos, sean la base de nanomedicinas innovadoras relacionadas con estructuras tipo “capa-por-capas”, sistemas sensibles a estímulos biológicos y aquellos modificados en la superficie obtenidos por vía de la conjugación con otras especies no sintéticas capaces de llegar a receptores celulares específicos (p. ej. azúcares, enzimas, anticuerpos, lectinas, ácido fólico), tanto para la liberación dirigida de fármacos como para terapia de cáncer.⁷⁹

10. 4 Nanopartículas de oro

Las nanopartículas de metales nobles y, más específicamente, las nanopartículas de oro (AuNPs), exhiben unas excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas, que son intrínsecas a su tamaño nanométrico. Destacan especialmente sus peculiares e inesperadas propiedades fototérmicas, por las que al ser activadas en presencia de luz láser, desprenden calor, actuando como auténticos nanocalentadores. Las AuNPs pueden ser producidas con distintos tamaños y formas y ser fácilmente funcionalizadas con un amplio abanico de ligandos (anticuerpos, polímeros, sondas de diagnóstico, fármacos, material genético). Por todo ello, las AuNPs despiertan un gran interés en el campo de la biomedicina.¹⁶³

Las AuNPs presentan un extraordinario potencial como agentes fototerapéuticos en el tratamiento del cáncer, así como para la elaboración de nanoestructuras útiles para el transporte y la vectorización selectiva de fármacos y macromoléculas terapéuticas y en terapia génica (vehiculización de plásmidos, DNA, RNA).^{164, 165} También destaca la utilidad de las AuNPs en la elaboración de sistemas transportadores inteligentes que permiten controlar, en el espacio y en el tiempo, la liberación del compuesto terapéutico asociado, ya que esta es desencadenada por un estímulo biológico interno (por ejemplo una variación en la concentración de glutatión entre el exterior y el interior de la célula)^{166, 167} o por activación de un estímulo externo (por ejemplo luz láser).^{168, 169}

Utilización del oro con fines terapéuticos

La utilización de oro con fines médicos no es nueva, sino que se remonta a la antigüedad, existiendo constatación de la utilización de oro coloidal en China en 2500 a. C. En el siglo XVI el oro era utilizado para tratar la epilepsia y a principios del siglo XIX era el fármaco de elección para el tratamiento de la sífilis. El descubrimiento por Robert Koch del efecto bacteriostático del cianuro de oro frente al bacilo de la tuberculosis, marca el comienzo de su utilización en medicina moderna siendo introducido en la terapia de la tuberculosis en 1920.^{164,}

¹⁷⁰⁻¹⁷² Una de las indicaciones actuales más importantes del oro es en el tratamiento de la artritis reumatoide y otras enfermedades reumáticas, incluyendo psoriasis y lupus eritematoso.¹⁷³⁻¹⁷⁵ En el tratamiento de la artritis reumatoide en principio se utilizaron tiolatos (tiomalato, tioglucosa) de oro que eran inyectados intramuscularmente en forma de solución. Pero estos compuestos, que experimentaban una rápida distribución a órganos como el riñón, hígado y bazo, no estaban exentos de poder causar desórdenes sanguíneos así como nefro y hepatotoxicidad. Por este motivo se introdujo en 1985 una segunda generación de fármacos de oro conteniendo ligandos fosfina, que eran más liofílicos y permanecían más tiempo en circulación, reduciéndose de manera significativa la nefrotoxicidad.^{163, 176}

A raíz del descubrimiento de la actividad antitumoral del cisplatino en 1969, que promovió, la investigación de otros metales con el mismo fin y fue identificada la actividad antitumoral del oro¹⁷⁷, especialmente de su complejo con fosfina^{163, 178}, el cual presenta, sin embargo, toxicidad cardiovascular que impide de su utilización en clínica. Es de destacar el reciente descubrimiento por Bhattacharya y Mukherjee¹⁶⁴ de las propiedades anti-angiogénicas de las AuNPs, lo que abre interesantísimas perspectivas de cara a su utilización en terapias del cáncer.

En las pasadas décadas también se puso de manifiesto la actividad antimicrobiana, antimalárica y anti-HIV de diversos complejos orgánicos de oro.^{173, 175, 179, 180} Otras aplicaciones médicas del oro incluyen su utilización en dispositivos médicos tales como marcapasos y stents, así como implantes de oído y odontología.^{164, 173}

Interés de las nanopartículas de oro

Las AuNPs presentan, en principio, una baja toxicidad y, unas propiedades peculiares e increíblemente interesantes las cuales pueden ser, modificadas mediante su funcionalización con múltiples ligandos, con la finalidad de obtener nanosistemas óptimos para las distintas aplicaciones terapéuticas.¹⁶³

Biocompatibilidad y baja toxicidad

Efectivamente, de acuerdo con Connor y col, los núcleos de oro de las nanopartículas son inertes y no tóxicos.¹⁸¹

En un estudio que tuvo por objeto determinar la citotoxicidad e inmunogenicidad de las AuNPs frente a células macrofágicas RAW264.7, se observó que las AuNPs no son tóxicas y no dan lugar a la secreción de citoquinas proinflamatorias TNF- α y IL1- β , siendo, además, internalizadas por los cuerpos lisosomales dispuestos en forma perinuclear. Estos resultados subrayan las propiedades no citotóxicas y no inmunogénicas de las AuNPs y su biocompatibilidad, corroborando su excelente potencial en nanoinmunología, nanobiotecnología y nanomedicina.¹⁸²

Una investigación in vivo en la que se evaluó la biodistribución de AuNPs tras su inyección intravenosa (AuNPs con tamaños 2 y 4 nm) y peritoneal (30 nm) a ratones (rastreo a los tiempos 1, 4 y 24 h), reveló que las AuNPs son captadas en cierta medida por las membranas celulares por endocitosis, no observándose otros mecanismos no-endocíticos. Además, independientemente de su tamaño, las AuNPs son internalizadas principalmente por las células Kupffer en el hígado y, en menor medida, por los macrófagos existentes en otros órganos como el bazo. Las AuNPs no parecen atravesar la barrera placentaria ni la barrera que protege el cerebro. Es interesante destacar que no se observa acumulación de AuNPs en otros órganos analizados como riñón, cerebro, pulmón, ovario, placenta o hígado fetal y que las AuNPs de menor tamaño (2 nm) parecen ser eliminadas no sólo por endocitosis macrofágica, sino también por simple filtración glomerular en orina.¹⁸³

Se ha demostrado que las características superficiales de las AuNPs influyen en su toxicidad. Las nanoestructuras catiónicas presentan mayor toxicidad que las aniónicas: las nanopartículas aniónicas con núcleo de tamaño 2 nm son prácticamente no tóxicas mientras que las equivalentes catiónicas son moderadamente tóxicas encontrándose la toxicidad probablemente relacionada

con la lisis celular (mediada inicialmente por una unión electrostática) dependiente de la concentración.¹⁸⁴ Se observó que AuNPs (con forma de nanocilindros) que habían sido estabilizadas con bromuro de hexadeciltrimetilamonio (BHTA) mostraban una fuerte citotoxicidad, por lo que se procedió a su modificación con polietilenglicol (PEG) mediante acción de PEG-SH a la solución anterior y eliminación del exceso de BHTA mediante diálisis. Se comprobó que las AuNPs-PEGiladas muestran una superficie próxima a la neutralidad y una baja toxicidad in vitro. Además, cuando se administran por vía intravenosa a ratones, al cabo de 30 minutos, el 54% de las AuNPs-PEGiladas aparece en sangre, mientras que la mayoría de las AuNPs que habían sido estabilizadas con BHTA se localizan en el hígado.¹⁸⁵

Facilidad de síntesis y multifuncionalidad

Las AuNPs se pueden preparar fácilmente, obteniéndose sistemas coloidales monodispersos estables con un tamaño entre 1 nm y 10 nm y una distribución de tamaños bien controlada. Algunos ejemplos de estas AuNPs y sus denominaciones: nanoesferas, nanocilindros, nanocubiertas, nanojaulas, nanopartículas y SERS.¹⁶³

Las nanoesferas de oro de 2-100 nm de diámetro pueden ser obtenidas por reducción controlada de cloruro de oro usando distintos agentes reductores y condiciones. Faraday fue el primero en preparar en 1857 oro coloidal por reducción del cloruro de oro con fósforo, atribuyendo el color rojo resultante a la obtención de partículas de tamaño muy pequeño. Años después, Mie corroboró que el color del oro coloidal es dependiente del tamaño. Desde entonces y especialmente durante los últimos años, se han dirigido importantes esfuerzos a la preparación por reducción de sales de oro – utilizando generalmente citrato como agente reductor y en presencia de agentes estabilizantes que previenen la aglomeración –, de AuNPs prácticamente monodispersas y de tamaño controlado.¹⁸⁶⁻¹⁹⁰ Se comprobó que la relación de citrato/oro y la velocidad de adición del agente reductor pueden influir en el tamaño de las AuNPs obtenidas:

cuanto más rápida es la adición del agente reductor, más pequeñas y monodispersas son las AuNPs.¹⁸⁹

Para la obtención de AuNPs con formas distintas a la esférica se han utilizado diferentes procedimientos; por ejemplo técnicas de síntesis electroquímica o deposición electroquímica de oro en el interior de los poros de plantillas de policarbonato o alúmina, síntesis mediada por semillas o procedimientos de bioreducción, han permitido obtener AuNPs con forma de nanocilindro. Las AuNPs tipo nanocubierta pueden ser obtenidas por técnicas de recubrimiento de sílica o beads de polímero con cubiertas de oro de espesor variable.¹⁹¹

Se discute sobre cuál es el tipo de AuNP más adecuado de cara a su aplicación en terapéutica. Se encontró que la captación intracelular de las AuNPs depende de su forma y tamaño.^{192, 193}

Las AuNPs presentan una elevadísima área superficial, por lo que pueden ser fácilmente funcionalizadas y bioconjugadas, modificando sus propiedades superficiales.¹⁶³

La funcionalización de las AuNPs se realiza generalmente mediante enlaces tiol¹⁹⁴, si bien también muestran afinidad por los grupos amino, fosfito y bisulfito. Numerosas moléculas han sido ligadas a la superficie de las AuNPs con distintos propósitos, ampliando su rango de aplicación. Se pueden utilizar procedimientos de modificación post-sintética¹⁹⁵ para funcionalizar la superficie de la partícula con porciones biocompatibles tales como oligoetilenglicol (OEG) y polietilenglicol (PEG).¹⁹⁵⁻²⁰³

Ejemplos de estrategias de funcionalización de las AuNPs de aplicación en terapia del cáncer son la conjugación con PEG-tiolado para conseguir una vectorización pasiva hacia células tumorales (aumenta el tiempo de vida media en el torrente sanguíneo y mejora de la permeabilidad y del efecto de retención en el tumor)^{204, 185, 205}; y la utilización de anticuerpos específicos de biomarcadores moleculares sobreexpresados en la superficie de células cancerígenas^{191, 206}, o la utilización de péptidos con propiedades de

reconocimiento específico de componentes intracelulares.²⁰⁷ Estos pueden ser conjugados directamente a las AuNPs o mediante puentes de PEG tiolado.¹⁶³

Propiedades fototérmicas

En la escala nanométrica, las propiedades electromagnéticas, ópticas y fototérmicas de los metales nobles difieren enormemente de las de sus correspondientes productos a granel. Por ejemplo las nanopartículas de oro (AuNPs) presentan una coloración rojo vino mientras que el correspondiente oro a granel es de color amarillo.¹⁶³

La peculiaridad de las propiedades ópticas y fototérmicas de las AuNPs proviene de las oscilaciones resonantes de sus electrones libres en presencia de luz (resonancia localizada de plasmón de superficie), gracias a la cual las nanopartículas pueden radiar luz (Mie scattering) o absorber luz que se transforma rápidamente en calor. En efecto, las AuNPs emiten un intenso calor cuando son estimuladas con la frecuencia correcta de luz láser u otra fuente de calor (microondas, radiofrecuencia, ultrasonidos); así una colección de pequeñas AuNPs puede calentar localmente un área de mil veces su tamaño, actuando como auténticos calefactores nanoscópicos activados por la luz.

El primer proceso encuentra una gran utilidad en el diagnóstico por imágenes (la aplicación más desarrollada hasta la fecha para las AuNPs); mientras que el segundo mecanismo ha abierto grandes expectativas principalmente en el tratamiento fototérmico (hipertérmico) láser selectivo de las células tumorales, pero también en la liberación de moléculas activas, a demanda, en lugares específicos del organismo, en la destrucción de virus y bacterias y en la desnaturalización de proteínas y ácidos nucleicos.^{165, 208}

Este singular comportamiento fototérmico de las AuNPs se encuentra muy influenciado por el tamaño, forma y propiedades superficiales de las AuNPs^{209, 210}, motivo por el cual en los últimos años ha habido un resurgimiento de la investigación de las rutas de síntesis y funcionalización de las AuNPs, al objeto de obtener nanopartículas con características idóneas para los distintos fines.¹⁶³

Aplicaciones terapéuticas de las nanopartículas de oro

Liberación de fármacos y macromoléculas terapéuticas

Las AuNPs también son útiles en la preparación de sistemas inteligentes que liberan la molécula terapéutica encapsulada como consecuencia de la activación de un estímulo interno (liberación mediada por un cambio de pH o liberación mediada por glutatión) o externos (liberación desencadenada por una fuente de luz láser).¹⁶³

Un ejemplo de liberación dependiente del pH es la del óxido nítrico (regula múltiples procesos celulares incluyendo la angiogénesis, vasodilatación y respuesta inmune) en condiciones ácidas (pH=3) a partir de sus nanoconjugados covalentes con AuNPs estabilizadas con poliamina.^{211, 212} Este mecanismo tiene aplicación en la liberación de fármacos en el interior de los tejidos inflamatorios y tumorales (pH ~ 6.8) o vesículas celulares como endosomas (pH ~ 5.5-6) y lisosomas (pH 4.5-5.0) que presentan un ambiente ligeramente ácido.^{213, 214}

La liberación mediada por glutatión de fármacos unidos a AuNPs mediante enlaces bisulfito, representa una estrategia alternativa de activación intracelular selectiva de pro-medicamentos. El glutatión, principal componente tiol de la célula, es un tripéptido constituido por los aminoácidos glicina, cisteína y ácido glutámico que actúa como antioxidante intracelular (el grupo tiol de la cisteína actúa como reductor). Este mecanismo de liberación guarda relación con la dramática diferencia existente entre la concentración intracelular de glutatión (1-10 mM) y la concentración extracelular de tioles (concentración de glutatión y cisteína en plasma: 2 μ M y 8 μ M, respectivamente).²¹⁵⁻²¹⁸

Las AuNPs también están siendo investigadas para controlar la liberación de macromoléculas terapéuticas (péptidos, proteínas). Destaca el sistema desarrollado por Bhumkar y col. para el transporte transmucosal de insulina, consistente en AuNPs funcionalizadas y estabilizadas con una cubierta del polímero catiónico quitosano. Las AuNPs recubiertas de quitosano y con la insulina adsorbida en su superficie, cuando son administradas por vía oral y

nasal, dan lugar a un efecto hipoglucémico comparable al de la insulina inyectada subcutáneamente y significativamente superior al correspondiente a las soluciones de insulina o de quitosano-insulina administradas por las mismas vías. El descenso máximo de glucosa tras la administración de los nanotrasportadores metálicos (60-70%) se alcanza al cabo de 2 h y 3 h, para las vías oral y nasal, respectivamente.^{219, 220}

El efecto fototérmico de las AuNPs presenta una atractiva oportunidad en el tratamiento fototerapéutico del cáncer, así como en el desarrollo de vehículos de liberación sensibles a estímulos luminosos externos, interesantes para fármacos que se emplean en el tratamiento de procesos patológicos que requieran una liberación del fármaco en respuesta a requerimientos metabólicos. Este es el caso de la insulina y ciertas enzimas, para las que niveles constantes de fármaco podrían provocar efectos adversos. Siguiendo este principio, se han diseñado sistemas microparticulares de liberación conteniendo dextranos marcados con fluoresceína, que incorporan AuNPs en la cubierta. La liberación del FITC-dextrano se produce como respuesta a la exposición del sistema a radiación láser que ocasiona el calentamiento de las AuNPs y la ruptura de la cubierta, con la consiguiente salida del fármaco.²²¹

Un concepto similar se aplicó a la preparación de un hidrogel termosensible que incorpora embebidas AuNPs de oro-sílica; de forma que al ser externamente activado por luz láser, la irradiación es absorbida por las AuNPs y convertida en calor, que conduce al hinchamiento y colapsamiento del gel, facilitando la liberación del fármaco.²²² Ejemplos de macromoléculas activas incorporadas a este sistema son insulina y lisozima, que son liberadas a una velocidad dependiente de su peso molecular.²²³

Terapia génica

La terapia génica representa una novedosa estrategia para el tratamiento de diversas enfermedades genéticas o adquiridas, resultando particularmente prometedora en el tratamiento de ciertos cánceres.²²⁴ El éxito de esta modalidad

terapéutica depende de la identificación de un vehículo adecuado para transportar el material genético (DNA plasmídico, RNA de interferencia, oligonucleótidos antisentido). Para ello, un nanotransportador ideal ha de proporcionar al ácido nucleico una protección eficaz frente a la degradación por las nucleasas, favorecer su internalización al interior de las células y permitir una liberación en forma funcional en el núcleo de las mismas.²²⁵ En sus inicios, se recurría a la utilización de vehículos de tipo vírico, los cuales resultaban muy eficaces aunque, sin embargo presentaban importantes inconvenientes relacionados con su citotoxicidad e inmunogenicidad²²⁶ que dificultaban su posible utilización en clínica. Estas limitaciones fueron subsanadas con la introducción de los sistemas de liberación sintéticos no virales, generalmente catiónicos, tipo liposomas, dendrímeros, lipoplexes y poliplexes que presentan, por el contrario, una eficacia menor debido a las barreras a que se enfrentan entre el lugar de administración y su localización en el núcleo de la célula.²²⁷

Las AuNPs, que pueden presentar una elevada relación carga/portador, constituyen una interesante apuesta en terapia génica. Estudios recientes demuestran que las AuNPs mejoran la estabilidad del DNA frente a la degradación enzimática, química y física; reducen su toxicidad y aumentan la eficacia de transfección intracelular. Además, es posible ajustar la carga y la hidrofobicidad de las AuNPs al objeto de maximizar la eficacia de transfección y minimizar la toxicidad, retos prioritarios en el desarrollo de sistemas de liberación génica. En este sentido, se sabe que la hidrofobicidad de las nanopartículas mejora la eficacia de captación celular y/o subsiguiente liberación del DNA, y que las nanopartículas anfifílicas constituyen vectores de transfección más eficaces.²²⁸

Se pueden obtener dos tipos de nanoconjugados entre el material genético y las AuNPs, dependiendo de se trate de una unión de tipo no covalente o covalente.¹⁶³

AuNPs funcionalizadas con grupos de amonio cuaternario fueron asociadas a DNA plasmídico mediante interacciones de tipo electrostático. Los resultados

demonstraron que el nanoconjugado DNA-AuNP resultante es capaz de proteger al DNA de la digestión enzimática y facilitar su liberación, constituyendo un eficaz sistema de liberación génica.¹⁶³

Al aumentar la hidrofobicidad del sistema nanotransportador, aumenta la internalización celular y, como consecuencia, la eficacia de transfección.¹⁶³

Los ácidos nucleicos pueden ser fácilmente modificados con tioles (-SH) para ser injertados en las nanopartículas mediante uniones de tipo covalente, dando lugar a nanoconjugados covalentes.¹⁶³

La PEGilación de las AuNPs transportadoras de DNA, mejora su estabilidad y prolonga su vida media en plasma. Además, la excitación (longitud de onda: 400 nm) de las DNA-AuNPs puede originar la desorción del DNA de la superficie por rotura de los enlaces oro-sulfuro. La estabilidad de los bioconjugados de AuNPs en medios de elevada fuerza iónica, mejora al aumentar la fracción molar y cadena de PEG y disminuir el diámetro de partícula. Las AuNPs modificadas con cadenas de PEG de PM 5000 son internalizadas tan eficazmente como los conjugados con cadenas de PM 900. Basándonos en este hallazgo, las AuNPs funcionalizadas con cadenas de PEG de al menos PM 5000 (para evitar la captación por el SRE), que presentan una vida media de circulación de unas pocas horas, podrían resultar las más eficaces para su utilización en, por ejemplo, la terapia del cáncer.¹⁶³

Terapia del cáncer

La vectorización pasiva consiste en la localización del vehículo o vector conteniendo el fármaco en el lecho capilar del tejido tumoral debido a un fenómeno de extravasación a través de los poros de los vasos sanguíneos. Los nanosistemas de 5-10 nm facilitan los efectos de permeación y retención y la PEGilación de las AuNPs (mediante conjugación por PEG-tiolado) permite prolongar el tiempo de permanencia de las nanopartículas en plasma y, en definitiva, mejorar su vectorización pasiva.^{204, 185, 205}

La vectorización activa conlleva el direccionamiento del fármaco a las células específicas diana, de manera que se modifica la distribución normal del mismo en el organismo, lo que hasta hace poco se consideraba impensable. Este tipo de vehiculización puede conseguirse conjugando al fármaco o nanotransportador una molécula (anticuerpo específico, lectina, proteína, hormona, ligando de bajo PM) capaz de reconocer específicamente y unirse a su diana terapéutica. Ambos tipos de mecanismos, vectorización pasiva y activa, se combinan en un nanotransportador ideal.²²⁹⁻²³¹

El desarrollo de un nanosistema terapéutico basado en AuNPs, que pueda ser dirigido al lugar adecuado y activado desde el exterior por una fuente luminosa apropiada (rayos láser), ofrece incuestionables ventajas en el tratamiento del cáncer por dos posibles mecanismos: (a) efecto hipertérmico localizado de las AuNPs y ; (b) liberación de un posible fármaco antitumoral asociado a las AuNPs, como consecuencia de la incidencia de luz láser. Las AuNPs pueden ser funcionalizadas, con anticuerpos (biomarcadores moleculares específicos sobreexpresados en la superficie de las células cancerígenas) que se unan específicamente a las células tumorales.¹⁶³

AuNPs (nanocilindros) fueron funcionalizadas covalentemente con herceptina (trastuzumab; anticuerpo monoclonal que permite el reconocimiento molecular de cáncer de mama que sobreexpresa antígenos muy específicos asociados al tumor) y PEG (protege a las nanopartículas frente al SRE). La estabilidad y funcionalidad de las partículas (Her-PEG-AuNPs) fabricadas, fue demostrada *in vitro* en presencia de sangre e *in vivo* en un modelo de cáncer de mama desarrollado en ratón desnudo, comprobándose que las Her-PEG-AuNPs se acumulan *in vivo* en el tumor.²⁰⁶

Se han propuesto AuNPs-PEGiladas para transportar TNF- α (factor de necrosis tumoral)^{229, 232, 233}, proteína que tiene una doble función (ligando de vectorización y acción antitumoral) y se emplea en el tratamiento de los tumores carcinoma de colon. La aplicación clínica de esta citoquina, con una excelente eficacia anticancerígena, se encuentra limitada por la elevada toxicidad sistémica. La

adsorción de TNF- α , a la superficie de AuNPs-PEGiladas permite maximizar su eficacia antitumoral y minimizar su toxicidad sistémica.¹⁶³

La combinación de los principios de hipertermia local y liberación de fármaco en un mismo sistema se traduce en un aumento de la eficacia terapéutica con respecto a cada uno de los tratamientos por separado: se retrasa significativamente el crecimiento tumoral, se reduce la perfusión sanguínea del tumor y disminuye la supervivencia de las células tumorales. Se comprobó que se produce una mejora adicional de la terapia tumoral cuando el fármaco anticancerígeno paclitaxel se incorpora a las TNF-AuNPs-PEGiladas.¹⁶³

El anclaje del ligando Galactosa-PEG-tiol en las AuNPs (obtención de Gal-PEG-AuNPs) facilita la vectorización activa a los hepatocitos, particularmente cuando se utilizan partículas de 50 nm.²³⁴

El ácido fólico y el metotrexato son dos moléculas específicamente reconocidas por los receptores de folato que se encuentran sobreexpresados en las superficies de muchas células tumorales, presentando además el metotrexato, actividad antitumoral. Se han preparado conjugados de AuNPs con estos compuestos con fines de vectorización: Andres y col. conjugan ácido fólico a AuNPs (10 nm) mediante un espaciador PEG y demuestran la captación selectiva e internalización de las nanopartículas de ácido fólico-AuNPs por células KB receptor de folato-positivas, mientras que la captación por las células WI que no sobreexpresan el receptor de folato, es escasa.²³⁵ Chen y col. investigan in vitro e in vivo la actividad citotóxica/antitumoral de conjugados de metotrexato-AuNPs, comprobando que la administración del conjugado suprime el crecimiento tumoral en un modelo de carcinoma pulmonar de Lewis en ratón, mientras que una dosis similar de metotrexato no presenta actividad.²³⁶

En ocasiones no es suficiente con que el nanotransportador se una a la superficie de la célula diana, sino que ha de ser capaz de atravesar la membrana e internalizarse en la misma (hipertermia y/o liberación intracelular del fármaco vectorizado) e incluso, en algunos casos (terapia génica) localizarse en el

núcleo. Con este fin se han ensayado diversas estrategias dirigidas a optimizar el tamaño y las propiedades superficiales de los nanotransportadores. Chithrani y col. constatan que AuNPs de oro esféricas de 50 nm de diámetro, son internalizadas por las células de mamíferos a una velocidad más rápida y elevada que partículas con otros tamaños; y que las nanopartículas recubiertas de transferrina se internalizan en las células posiblemente vía un camino de endocitosis mediado por una proteína específica.¹⁹²

Sin lugar a dudas una de las aplicaciones más prometedoras de las AuNPs es su utilización como plataforma que integra en el mismo sistema las dos funciones imprescindibles para el correcto tratamiento del cáncer: diagnóstico y subsiguiente terapia. Las AuNPs pueden ser detectadas en muestras biológicas y tejidos utilizando una gran variedad de métodos: microscopía electrónica, de campo oscuro, láser de barrido, tomografía óptica, espectroscopía Raman, imagen de Rayos X, etc.²⁰⁶

La aplicación de las AuNPs en terapia génica y vectorización activa a células tumorales presenta un gran interés. El éxito de la vectorización de AuNPs a células tumorales in vivo requiere un esfuerzo de ingeniería que garantice su: (a) biocompatibilidad, (b) estabilidad in vivo; (c) capacidad de circular en sangre durante el tiempo suficiente para alcanzar la célula u órgano diana (protección frente al SER utilizando, por ejemplo, PEG); (d) capacidad de reconocer y unirse a las células tumorales; (e) ocasionalmente, capacidad de atravesar la membrana e internalizarse intracelularmente e incluso localizarse en el núcleo.¹⁶³

Especialmente prometedora es la estrategia que consiste en diseñar una nanoplataforma a base de AuNPs que combine, en la misma, las dos funciones: diagnóstico y terapia del cáncer.¹⁶³

10.5 Nanotubos de carbono

Características de los nanotubos de carbono

Los nanotubos de carbono pertenecen a la familia alotrópica del carbono de los fullerenos. Son moléculas cilíndricas constituidas por unidades hexagonales de átomos de carbono con hibridación sp^2 (distancia C-C de $\sim 1.4 \text{ \AA}$). Ellos se describen como cilindros huecos formados al enrollar una o varias capas de láminas de grafeno en cilindros. Estos tienen dos formas de estructura cilíndrica: nanotubos de carbono de pared simple o de una capa (SWNT, por sus siglas en inglés) y nanotubos de carbono de multicapas (MWNT, por sus siglas en inglés).²²

La solubilidad de los nanotubos en disolventes acuosos favorece la biocompatibilidad, por lo que los compuestos basados en nanotubos de carbono en el suministro de fármacos deben cumplir con este requisito básico.²²

Para dispersar correctamente a los nanotubos, el medio de dispersión debe ser capaz tanto de humectar la superficie del tubo hidrofóbico como de modificar la superficie del tubo para disminuir su agregación. Cuatro enfoques básicos se han utilizado para obtener una dispersión: con el empleo de surfactantes; por disolventes; mediante la funcionalización de las paredes de los nanotubos y utilizando biomoléculas.²²

Los surfactantes, en general, pueden ser útiles para dispersar nanotubos. La dispersión por surfactantes no iónicos está en función de la longitud de la cadena hidrofóbica alquilo del surfactante.²²

Cuanto mayor sea el peso molecular del surfactante mayor es la solubilidad de los nanotubos debido a la estabilización estérica por adsorción del surfactante/polímero en las paredes del nanotubo, con lo que impiden la agregación.²²

A medida que la carga (potencial zeta) aumenta, la dispersión se estabiliza por el aumento de la repulsión electrostática.²²

La dispersión se logra mediante la eliminación de las fuerzas de van der Waals entre un nanotubo de carbono o paquetes de estos mediante la introducción de grupos funcionales en su superficie.²²

Preparación de los nanotubos de carbono

Las técnicas que actualmente son empleadas para la preparación o síntesis de nanotubos de carbono son: descarga en arco, ablación láser y métodos de deposición de vapores químicos.²²

Los nanotubos de carbono se pueden obtener con sus extremos sellados si se emplean Ni/Co, Ni/Y, Rh/Pt, o Fe como catalizadores.²²

Para producir nanotubos con la calidad requerida se han empleado varios métodos de purificación. Entre ellos se encuentran la cromatografía, la purificación asistida por microondas, el empleo de elevadas temperaturas, la microfiltración y la purificación oxidativa.²²

Los productos nanofarmacéuticos basados en los nanotubos de carbono requieren de una comprensión de sus propiedades físicas y químicas, siendo la solubilidad una de las propiedades más necesarias de comprender.²²

También se podrían utilizar para mejorar la biodisponibilidad oral, para sostener el efecto de fármacos o genes en un tejido seleccionado, para solubilizar fármacos para una administración intravascular, y para mejorar la estabilidad de los agentes terapéuticos contra la degradación enzimática de las nucleasas y proteasas, especialmente en el caso de los fármacos en forma de proteínas, péptidos y ácidos nucleicos.²²

Dendrímero: son moléculas tridimensionales, nanoescalares, así llamadas porque las estructuras semejan árboles con ramas (dendrones). Los dendrímeros son capaces de alojar, ya sea en las cavidades internas como así también en la superficie, pequeñas moléculas que después pueden liberarse en momentos, lo que los hace prometedores agentes de suministro de

medicamentos, y agentes de suministro de perfumes y herbicidas con liberación programada según un esquema temporal.²

Fago T4: su diseño está inspirado en los virus, dando vida a una máquina que tiene la capacidad de colocar sus patas sobre la superficie de las bacterias e inyectarles ADN.³

Nanoalambres: son nanoestructuras en forma de filamento, recubierto de receptores biológicos específicos a determinado tipo de microorganismos y/o sustancias que al encontrarse inmerso en un medio celular puede variar su conductividad eléctrica al reconocer al agente de acuerdo al tipo de receptores en su superficie.⁴

Nanobiosensores Fotónicos: son nanobiosensores basados en nanopartículas de oro o magnéticas que interactúan con los *Quantum Dots* (puntos cuánticos) de energía de la radiación electromagnética llamados fotones.⁵

Nanobombas: son conglomeraciones de nanotubos de carbono recubiertos de anticuerpos a escala nanométrica, que una vez son expuestos a la luz y al calor resultante, son incapaces de disipar la energía concentrada y se produce una especie de explosión.⁶

Nanosensores: dispositivos diseñados nanométricamente encargados de detectar una determinada acción externa, temperatura, presión, compuesto químico, etc.²⁹

Nanomotores: los nanomotores ilustran un ejemplo de engranaje atómico realizado por ordenador. Estos son de nanotecnología *Bottom-up*.³⁰

Nanotransportadores: son de gran eficacia a la hora de transportar fármacos y ADN. Lo que facilita la capacidad de dirigir con precisión un fármaco a la localización deseada en el cuerpo, tal como la de órganos particulares o células específicas.³¹

Nanopartículas: es una pieza pequeña de materia, compuesta de un elemento particular o un compuesto de elementos. Lo típico es que midan menos de 100 nanómetros de diámetro. El término puede referirse a un amplio rango de materiales, incluida la materia particulada que expulsa el tubo de escape de un automóvil. En los últimos veinte años, las partículas diseñadas con ingeniería nanológica se fabrican con fines comerciales, con el propósito de sacarle ventaja a sus efectos cuánticos. Actualmente se está utilizando fármacos, lubricantes, tintas, herramientas, tejidos entre varios otros.³²

Nanoshells: son nanopartículas que se conforman de una delgada capa metálica generalmente de oro, de unos 8 a 10 nanómetros que recubre una estructura esférica de silicio de un diámetro aproximado de unos 100 nanómetros.³³

Nanocompuestos: compuestos de metales, polímeros y materia biológica que permiten comportamiento multifuncional. Aplicados donde pureza y conductividad eléctrica importan, como microelectrónica, llantas de automóviles, equipos deportivos como raquetas y pelotas de tenis, ropa, textiles, antisépticos, entre otros.²⁹

Otras nanopartículas sólidas

Son objetos esféricos fabricados con materiales biodegradables, como proteínas (por ejemplo, albúmina o colágeno), grasas o polímeros. Las nanopartículas sólidas actuales, que van en tamaño de 10 a 1000 nm, pueden realizar varias tareas y proporcionar imágenes y, al mismo tiempo, administrar el fármaco.²²

Una de las principales ventajas de estas formulaciones es que estas nanopartículas se pueden preparar para proporcionar una liberación controlada de fármacos. Las nanopartículas sólidas se encuentran entre las nanoformulaciones más comunes.²²

10.0 EXCIPIENTES Y SU FUNCIONALIDAD

La determinación de las características de funcionalidad de los excipientes como partículas, como polvos y como una mezcla de polvos en una formulación, permite la reducción de las propiedades de los polvos a números tangibles. Los valores específicos de sus propiedades físicas, químicas y tecnológicas, que identifican la funcionalidad de un material, permiten establecer parámetros estadísticos y límites de corte para utilizarlos. Para controlar la calidad y consistencia entre los diferentes lotes del material y para predecir y comparar la funcionalidad de los materiales obtenidos con diferente marca comercial. La determinación de la funcionalidad de los materiales reduciría el costo de una experimentación muy amplia, debido al conocimiento de lo que se puede esperar de un material con cierta funcionalidad.²³⁷

Los fabricantes y distribuidores de materias primas ofrecen continuamente nuevos excipientes que permiten el desarrollo de nuevas formas de dosificación, que mejoran la eficiencia y que reducen el costo de los medicamentos. Los excipientes pueden agregar funcionalidad a los productos farmacéuticos. Actualmente, se reconoce el valor de los excipientes más que nunca antes.²³⁸

Un resultado satisfactorio en la manufactura de un producto farmacéutico depende de que se apliquen sistemas de control robustos en todos los aspectos en que se base el producto; en el analítico, en la ingeniería de fabricación y en los materiales. Regularmente, muchos de los aspectos de la manufactura de un medicamento se pueden controlar satisfactoriamente. Sin embargo, es común que los fármacos y excipientes sean los que puedan provocar variaciones en la calidad del producto terminado.²³⁹

El conocimiento de las propiedades y el desempeño de los materiales farmacéuticos es crítico para el diseño de formas farmacéuticas seguras y efectivas. El desempeño que se desea en los productos farmacéuticos se considera dividido en niveles de importancia. En un primer nivel de importancia se encontrarían propiedades de los materiales y productos como la solubilidad,

la velocidad de disolución y la biodisponibilidad, en segundo término parámetros como la estabilidad y en un tercer nivel de importancia estarían, por ejemplo, las propiedades mecánicas de las formas farmacéuticas.²³⁷

Las propiedades de los materiales se podrían situar en el nivel de las partículas individuales, en el nivel del conjunto de ellas o polvos y en la forma de dosificación. Las propiedades de los excipientes y de los principios activos se evalúan en cada uno de estos diferentes niveles. En el nivel de partículas individuales se evaluaría, entre otros, la solubilidad, la velocidad de disolución, el polimorfismo y la cristalinidad. En el nivel del polvo se evaluaría entre otros, el flujo del polvo y la capacidad del polvo para procesarse. En el nivel de forma farmacéutica los materiales se evaluarían en sus efectos sobre el desempeño de la forma farmacéutica.²³⁷

Aunque el tamaño y morfología de las partículas individuales, entre otras de sus propiedades, serían un indicativo de la funcionalidad física de los polvos, se considera que sea sólo el efecto integrado de las partículas el que defina realmente el procesamiento y manipulación del polvo. Se sugiere que las propiedades del conjunto de las partículas es esencial para definir su funcionalidad física. Las propiedades de los polvos se expresan a través de diferentes índices y se considera que estos índices se correlacionen con las propiedades de las formas farmacéuticas.²⁴⁰

Es de notarse que el desarrollo de la nanotecnología, dentro del desarrollo de las formas farmacéuticas, hace cada vez más difícil el separar lo que es el principio activo y los adyuvantes inactivos, ya que sin ellos el fármaco no tendría la misma eficacia y la misma eficiencia. De cualquier manera, los excipientes son, hoy en día, elementos que dan funcionalidad y un desempeño apropiados a las formas farmacéuticas.²³⁷

El principal interés en las propiedades de los materiales farmacéuticos radica en hacer que el producto terminado cumpla con los objetivos terapéuticos

deseados. Se encontrarían por ejemplo las características de estabilidad y las propiedades mecánicas de los productos.²³⁷

En el desarrollo de los productos farmacéuticos, una vez que se conocen las características de los principios activos estas deben ajustarse a las características deseadas en la forma farmacéutica terminada. Para este fin se adicionan los excipientes, los cuales le darían al principio activo las características o funcionalidades terapéuticas, de estabilidad y de reproducibilidad o fabricación deseadas. Se considera que los problemas que se presentan en estos tópicos serían trazables hasta problemas de falta de comprensión o de conocimiento de las propiedades o características de los materiales farmacéuticos y de las metodologías de procesamiento. Estas circunstancias nos muestran la necesidad de mejorar nuestro conocimiento de las características de la funcionalidad de los excipientes, como materiales que conforman una forma farmacéutica.²³⁷

Recientemente se ha reconocido la importancia de la ciencia de los materiales en la industria farmacéutica. Aunque la ciencia de los materiales ha formado parte de la investigación de los productos farmacéuticos desde los 1950s su importancia ha aumentado recientemente. La parte más importante de su aplicación se orienta al estudio del impacto de las propiedades fisicoquímicas de los componentes de una formulación sobre el desempeño de la forma de dosificación terminada o sobre el uso de técnicas de análisis avanzadas en la caracterización de los materiales o los sistemas de suministro de fármacos. El interés farmacéutico en la ciencia de los materiales incluye el diseño de materiales con características físicas y químicas específicas, el uso de modelos que permitan predecir el desempeño de las formas de dosificación y el desarrollo de nuevas técnicas de caracterización de los materiales.²⁴¹

Las técnicas de análisis como las de rayos X y las de conductividad eléctrica de las formulaciones ejemplifican las nuevas técnicas de caracterización de los materiales. El diseño de materiales se ejemplifica con la obtención de partículas con diferentes tamaños, morfologías y estructuras de los cristales. El concepto

de modelos predictivos se ejemplifica con el establecimiento de relaciones matemáticas entre el desempeño *in vitro* de las formas farmacéuticas y su absorción *in vivo*. El interés en los modelos predictivos radica en la posible reducción de costos de los estudios *in vivo*.²³⁷

La farmacopea y el formulario nacional de los Estados Unidos de América²⁴² define a los excipientes²⁴³ como: Cualquier componente que se agrega intencionalmente a la formulación de una forma farmacéutica, que es diferente del principio activo. La comisión internacional de los excipientes los define como: Sustancias, aparte del principio activo, que se encuentran en una forma de dosificación, las cuales se han evaluado de manera apropiada en su seguridad y que se incluyen en un sistema de suministro de fármacos para ayudar en su procesamiento o manufactura, para proteger, apoyar y mejorar la estabilidad, la biodisponibilidad o la aceptabilidad por el paciente, para apoyar en la identificación del producto, para mejorar cualquier otro atributo de seguridad y efectividad de la forma de dosificación, durante su almacenamiento y durante su uso.²³⁷

Los excipientes ayudan en la fabricación y en el desempeño de las formas de dosificación, sirviendo a diferentes propósitos. Los excipientes son considerados como componentes funcionales de una formulación.²³⁷

En contraste con los excipientes utilizados antes de la nanotecnología, la funcionalidad de los excipientes emergentes es de mucho mayor repercusión sobre la conducción del fármaco hacia una meta específica y sobre su actividad sobre tejidos o células específicas. Esto es, la actividad terapéutica de los fármacos se ve influida en mayor medida por los excipientes. Varios de los excipientes nuevos son entidades muy complejas, comparadas con los excipientes tradicionales. Entre ellos se encuentran los dendrímeros, las nanopartículas, los nanotubos de carbono, los cocleatos, las huellas o sondas cuánticas y las estructuras biomiméticas.²³⁷

Los dendrímeros se han utilizado como transportadores en sistemas de suministro de fármacos. Los dendrímeros son polímeros con una estructura en forma de árbol y casi esféricos, con diámetros entre 2 y 10 nm, que se utilizan como tales y como bloques para la construcción de sistemas supramoleculares. Entre los usos actuales y futuros de los dendrímeros se encuentran²⁴⁴:

- Suministro de ácidos nucleicos, fármacos encapsulados y fármacos enlazados covalentemente.
- Formación de películas para liberación controlada.
- Lubricantes para procesos farmacéuticos.
- Transportadores para sistemas de suministro de fármacos.
- Reactivos de diagnóstico, serodiagnos y sistemas biosensores.
- Vacunas contra bacterias, virus y parásitos.
- Modificadores de las interacciones célula-célula y en la expresión de genes.

Un ejemplo de la utilización de los dendrímeros en con fármacos que actúan contra células cancerígenas. En algunas variedades de células cancerígenas se encuentran sobre expresados los receptores de folato. Los dendrímeros modificados con folato utilizan esa circunstancia para orientarse hacia esas células a través del reconocimiento ligando-receptor. Los dendrímeros modificados se conjugan covalentemente con el fármaco metotrexato para matar específicamente las células que expresen este receptor. Esto ocurre después que el complejo dendrímero-metotrexato, atrapado por las células por endocitosis mediada por el receptor, libera el fármaco intracelularmente. El complejo con el dendrímero permite dar dirección, capacidad para formar imágenes y una liberación intracelular del fármaco. Este complejo muestra una toxicidad 100 veces menor que el metotrexato libre.²⁴⁵

Las nanopartículas funcionan como excipientes para transportar fármacos adsorbidos sobre su superficie, dispersos en el interior del polímero o lípido o disueltos en la matriz de la partícula. La tabla # ejemplifica algunos de los

sistemas de suministro de fármacos en que se han usado las nanopartículas, incluyendo entre ellas a los liposomas, y que están aprobados por la FDA.²⁴⁶

Tabla 1. Ejemplos de sistemas de suministro de fármacos nanoparticulados aprobados por la FDA.

Fármaco o agente terapéutico (marca comercial).	Indicación
Liposomas de Amfotericina B (Ambisome, Ablecet, Amphotec)	Infecciones por hongos y leishmaniasis
Polietilenglicol-adenosin deaminasa (Pegademase)	Enfermedades de inmunodeficiencia combinada severa
Liposomas de doxorubicina estabilizados con polietilenglicol (Doxil, Evacet)	Cáncer de ovario refractario, sarcoma de Kaposi
Polietilenglicol-L-aspariginasa (Oncaspar)	Leucemia linfocítica aguda
Pemetrexed (Alimata)	Mesotelioma pleural maligno
Paclitaxel enlazado a proteínas (Abraxane)	Cáncer de mama metastásico
Polietilenglicol-interferon α -2b (Pegays)	Hepatitis C

Las nanotubos de carbono son materiales con potencial para usarlos como excipientes farmacéuticos debido a su estructura flexible y a la posibilidad de funcionalizarlos químicamente. La aplicación en sistemas biológicos depende de su compatibilidad con medios hidrofílicos. Particularmente depende de su solubilización en solventes farmacéuticos y de sus propiedades químicas, fisicoquímicas y farmacéuticas.²³⁷

Los nanotubos de carbono se han utilizado para orientar o dirigir sustancias activas hacia órganos específicos. Un ejemplo de ello es su aplicación para dirigir péptidos con actividad biológica hacia el sistema inmune. Un epítipo se

unió covalentemente a un grupo amino en un nanotubo de carbono, utilizando un elemento de unión bifuncional. Los nanotubos modificados con el péptido mimetian la estructura secundaria que sirve para el reconocimiento de anticuerpos monoclonales o policlonales. La inmunización de ratones muestra que los conjugados de los nanotubos con el péptido tienen una mayor respuesta de anticuerpo *in vivo* que el péptido libre.²⁴⁷

Las aplicaciones de los nanotubos de carbono como excipientes en formulaciones farmacéuticas son de mucho interés, dada su capacidad para interactuar con macromoléculas, tales como las proteínas y el ADN.

Los lisosomas son organelos diana para la aplicación farmacológica de los nanotubos de carbono de pared simple, mientras que las mitocondrias son los organelos de destino para su citotoxicidad.

Existen tres modos de interacción entre los nanotubos de carbono y los componentes activos de formulaciones farmacéuticas. El primer método de interacción es como absorbentes porosos para atrapar a los componentes activos dentro de una malla de nanotubos o nanotubos en forma de paquetes o bultos. El segundo es la funcionalización de los nanotubos de carbono mediante la adhesión a sus paredes exteriores de partes del compuesto de interés. El tercer enfoque implica el uso de los nanotubos como nanocatéteres.

La funcionalización de nanotubos de carbono promete ser muy utilizada en la nanomedicina para la administración de fármacos.

La funcionalización de los nanotubos de carbono con fracciones de polietilenglicol (PEG) ha sido ampliamente utilizada para mejorar la solubilidad de los conjugados de nanotubos en disolución acuosa, así como la biocompatibilidad de las fracciones.

La administración de proteínas es posible por las funcionalizaciones, tanto catiónicas como aniónicas, de los nanotubos de carbono.

Los nanotubos funcionalizados catiónicamente han sido utilizados como soporte para la administración de genes. A diferencia de la unión no específica de las proteínas con los nanotubos funcionalizados, la unión del ADN con estos es por interacciones electrostáticas entre los grupos fosfato del ADN y los grupos funcionales catiónicos.

La idea básica del uso de los nanotubos de carbono en la administración de vacunas implica la unión de estos a un antígeno, sin que este pierda su conformación y se garantice la respuesta específica esperada. Sin embargo, es igualmente importante que los nanotubos de carbono no sean inmunogénicos.

Debido al tamaño de los nanotubos y su facilidad para la entrada y captación de células, el suministro selectivo a nivel celular de los productos farmacéuticos pudiera ser mejorado mediante el uso de nanotubos como soportes, así las molestias asociadas con las actuales técnicas invasivas podrían ser reducidas al mínimo. Los nanotubos de carbono pueden proteger los restos de las fracciones terapéuticas encapsulando estas estructuras dentro de ellos.

El segundo uso posible es como estructuras de administración nanofluídica de medicamentos.

---- Unas palabras finales sobre un aspecto de importancia esencial: los efectos de las nanopartículas sobre la salud del hombre, de otras especies y del medio ambiente.

Las estructuras supramoleculares antes mencionadas son llamadas dispositivos nanobiotecnológicos, dispositivos nanobiológicos o nanodispositivos semisintéticos (biosintéticos). Un ejemplo de su utilización farmacéutica es la orientación de los fármacos hacia ciertos tejidos seleccionados. Los métodos para lograrlo incluyen las preferencias celulares para atrapar las estructuras supramoleculares de cierto tamaño y química superficial, una partición o reparto preferente de los nanomateriales debido a su grado de opsonización, la extravasación diferencial del sistema vascular de varios tejidos o la afinidad de

moléculas biológicas integradas a los nanodispositivos con receptores en las células o tejidos de interés.²³⁷

El disparo seguro y efectivo de la acción terapéutica podría ser también función de los nanodispositivos. El disparo de la acción terapéutica podría incluir eventos como la liberación de un fármaco desde un depósito o el procesamiento físico o químico de los materiales farmacéuticos para transformarlos de un estado inerte a uno activo. En este último caso el material inerte se activa a un tiempo y en un lugar específico. Las estrategias más comúnmente utilizadas para iniciar la acción terapéutica son un estímulo externo, un sistema de disparo intrínseco y una señalización secundaria. Estos sistemas requieren de una activación predecible para controlar los nanodispositivos o de un evento de disparo intrínseco definido espacial y temporalmente, mediado por alguna condición particular. El evento de activación podría ser la ruptura o separación de un inhibidor para liberar los efectores. Otro modo de activación podría ser un cambio químico o un cambio en la conformación del efector, como respuesta a una condición del medio ambiente.²⁴⁸

Las estructuras farmacéuticas obtenidas en la nanotecnología se denominan como sistemas de suministro de fármacos. Sin embargo, existen antecedentes en que se ha considerado como excipientes a componentes unidos covalentemente a los principios activos, por ejemplo, el polietilenglicol en proteínas pegiladas y la albúmina en productos conjugados como el complejo albúmina-doxorubicina.²⁴⁹

La evolución de la funcionalidad de los excipientes derivados de la nanotecnología hace difícil el discriminar la diferencia entre los excipientes y los fármacos; debido al papel tan importante que juegan los excipientes en la respuesta clínica de los fármacos. Se debe crear una nueva perspectiva acerca de que son los excipientes y acerca de su contribución en la nueva generación de los sistemas derivados de la nanotecnología, la biotecnología y de los medicamentos genéticos.²³⁷

Los excipientes permiten mejorar la efectividad de los fármacos de diferentes maneras. Un ejemplo de ello sería el control de la absorción de los fármacos, la mejora de la seguridad y de la estabilidad de los medicamentos. Esta circunstancia nos enfatiza el aumento de la importancia de los excipientes en la fabricación de formas farmacéuticas y su participación en la innovación de las formulaciones.²⁵⁰

Los excipientes son necesarios para suministrar los principios activos pero el número de excipientes que requiere una formulación y sus posibles interacciones pueden complicar el trabajo de diseño para la fabricación comercial. Indudablemente la función económica también es de considerarse en cada decisión que se toma en la empresa farmacéutica, llevándonos a un análisis de costo-beneficio y de oferta y demanda en la selección de excipientes.²⁵¹

En un ejemplo de una forma farmacéutica, las características deseables que podrían constituir la incluirían:

- Fácil de fabricar a diferentes escalas de producción
- Estable física y químicamente, aún en condiciones de almacenamiento adversas
- Aceptable globalmente para los pacientes y los proveedores de servicios de salud
- Suministra el principio activo al sitio de acción a una velocidad óptima
- Se fabrica de manera económica y reproducible, utilizando equipo de manufactura común
- Contiene pocos excipientes y estos están registrados en las farmacopeas y los venden diferentes proveedores
- Los excipientes sólo se incluyen para un propósito específico

Las propiedades del principio activo son la principal limitante para la formulación y definen como es que este principio activo responde a las condiciones de estrés que ocurren durante la fabricación y el uso por el paciente. Una vez conocidas las propiedades del principio activo, se pueden escoger los excipientes y el

método de fabricación que permitan superar las deficiencias aparentes del fármaco para transformarse en un medicamento. Esto enfatiza la importancia de la funcionalidad de cada excipiente así como los beneficios de cada operación de fabricación.²⁵²

Una selección sin prudencia tanto de excipientes así como de los proveedores puede crear problemas que podrían conducir al fracaso del desarrollo del producto. La aplicación de los conceptos de la calidad a través del diseño (quality by design) enfatiza la necesidad de caracterizar las propiedades de los materiales, por ejemplo, sus propiedades de tamaño y distribución del mismo, sus propiedades térmicas, químicas, reológicas y mecánicas.²⁵³ Sin embargo, es necesario también caracterizar su comportamiento tecnológico como materia prima y hacer explícito su desempeño en la formulación y en el proceso de manufactura.²³⁷

La selección de los excipientes requiere un balance entre la eficiencia en tiempo, en costo y en el desempeño esperado en el producto. La razón para buscar la multifuncionalidad en los excipientes es la disminución de su número en una formulación así como la disminución de las etapas de procesamiento. Los excipientes se utilizan para convertir un fármaco en una forma farmacéutica que el paciente puede utilizar para tener un beneficio terapéutico. Los excipientes se incluyen en una formulación por poseer propiedades que en conjunto con un proceso permiten fabricar un medicamento con las especificaciones requeridas. Las propiedades deseadas de un excipiente se refieren a su desempeño funcional o funcionalidad.^{254, 255}

La funcionalidad es la propiedad que es deseable en un excipiente para ayudar en la fabricación y que mejora las condiciones de la manufactura, la calidad o el desempeño del medicamento.²³⁷

Obviamente todos los excipientes cumplen una función o un propósito, si no fuera así no se incluirían en las formulaciones. Sin embargo, la funcionalidad de un excipiente se refiere a su contribución en la elaboración, la liberación,

identidad y en la forma de dosificación. La funcionalidad no sólo dependería de las propiedades intrínsecas del excipiente, sino también de la aplicación a una fórmula y a un proceso específico; la funcionalidad va más allá del excipiente. Esto quiere decir que no se podría garantizar totalmente la funcionalidad del excipiente de forma aislada.²⁵⁴

Cada formulación o producto tiene sus propios requisitos o exigencias para la funcionalidad de un excipiente. Por esta razón, la funcionalidad sólo puede determinarse en un lote y un producto específico.²⁵⁵

Actualmente se considera que la funcionalidad de los excipientes podría determinarse a través de *pruebas de funcionalidad subrogadas*, esto es, a través de pruebas físicas que tengan alguna relación con la funcionalidad requerida o con las pruebas de desempeño.²³⁷

Otras definiciones de la funcionalidad de un excipiente incluyen el término de *excipientes con funcionalidad añadida* o aumentada. Esto se refiere al procesamiento de los excipientes originales los cuales se han procesado o coprocesado para mejorar o aumentar propiedades ya existentes o para dar nuevas funcionalidades a excipientes que no las tenían. En comparación con los excipientes originales, se considera que las propiedades que se mejoran incluyen las propiedades físicas, mecánicas y/o químicas de estos excipientes que ayudan a resolver problemas de la formulación.²³⁷

El término *excipiente de funcionalidad elevada* (high functionality excipients-HFE) también se ha utilizado para designar la funcionalidad de los excipientes. Particularmente se refiere a excipientes que son multifuncionales, que desempeñan las funciones de varios excipientes tradicionales, sin la necesidad de un procesamiento complejo. Los excipientes de funcionalidad elevada se consideran particularmente relevantes para responder a los desafíos cada vez más complejos en el desarrollo de productos nuevos para los que se requieren perfiles de suministro de los fármacos también complejos. Ejemplos de excipientes con una elevada funcionalidad son la celulosa microcristalina

silificada, el estearil fumarato de sodio y el copolímero de alcohol polivinílico-polietilenglicol.²⁵¹

Algunos autores consideran otra denominación de excipientes, relativa a su funcionalidad, en el término de *excipientes con grado de especialidad*. Este término corresponde a excipientes que mejoran alguna característica de funcionalidad, a menudo se considera que a expensas de otra u otras funciones. Un ejemplo sería la celulosa microcristalina con un mayor tamaño de partícula a la que tradicionalmente se ha suministrado. Este mayor tamaño de partícula promueve un mayor flujo del polvo, sin embargo y al mismo tiempo, el mayor tamaño de partícula disminuye la compactabilidad. Esta circunstancia podría obligar a agregar otros componentes a la formulación para compensar esta deficiencia.²⁵¹

Los *excipientes críticos* serían otra denominación relativa a la funcionalidad de los excipientes. Estos excipientes se definirían como materiales inertes que pueden afectar las características, la calidad, la estabilidad o el desempeño de los medicamentos. Un ejemplo de ellos serían los agentes solubilizantes y los agentes que modifican la disolución tales como los tensoactivos, los agentes nojantes para fármacos hidrofóbicos, los conservadores para inyectables, etc.²⁵⁶

Por otro lado, el desempeño funcional de los excipientes puede ser múltiple y esta multiplicidad sería benéfica en el diseño de una formulación. Los excipientes multifuncionales incluyen excipientes pre-procesados y co-procesados que proveen mayores funcionalidades a las formulaciones. El término multifuncionalidad se aplica también a productos que cumplen varios objetivos en una formulación.²⁵⁷

El control de la funcionalidad de los excipientes es tan importante como el control de su identidad y de su pureza. Entre las razones para su control estaría el hecho de que muchos excipientes tienen múltiples funciones y de que no hay ninguna advertencia o manifestación de un desempeño diferente en los excipientes obtenidos de diferentes proveedores. Consecuentemente se requiere

controlar la funcionalidad de los excipientes para asegurar una producción sin contratiempos.²³⁷

Las pruebas o ensayos de funcionalidad de los excipientes son una tendencia de la industria farmacéutica. Muchas materias primas requieren de algún tipo de pruebas de funcionalidad para determinar su desempeño en el producto farmacéutico terminado. Las pruebas de funcionalidad comprenden un ensayo físico o tecnológico para determinar que se logrará un efecto deseado en la formulación. A menudo es difícil la obtención de la funcionalidad deseada con una consistencia entre un lote y otro. Particularmente cuando los proveedores sólo certifican que los excipientes cumplen con las exigencias farmacopéicas.²³⁷

Las GMPs puntualizan que cada componente debe cumplir con todas las especificaciones escritas que aseguran que el producto terminado cumple con las exigencias de pureza, potencia y calidad. Como respuesta a estas necesidades de los fabricantes farmacéuticos, los proveedores de excipientes han escrito especificaciones de sus productos que se sustentan en un muestreo y análisis por una unidad de control de calidad. Sólo se puede exigir que los proveedores de excipientes aseguren que los procedimientos se siguen y que se producen excipientes de una calidad consistente.²⁵⁸

El desempeño de los excipientes debe optimizarse para asegurar que desarrollan consistentemente la función deseada y asegurar también que el proveedor y la manera en que él controla la calidad del material se encuentran definidos.²⁵⁹

La selección de las pruebas se hace en función de su significación o importancia, la cual se refiere a:

- Pruebas que nos den el conocimiento y una mejor comprensión del impacto del excipiente sobre la fórmula, el proceso y el producto
- Especificaciones que tengan un significado
- Que permitan reconocer y aceptar la variabilidad normal entre un lote y otro

- Que permitan comprender cuál es la variabilidad normal y su posible impacto sobre el proceso
- Que el formulador comprenda que necesita trabajar con esta variabilidad y no contra ella

La distribución del tamaño de las partículas de los polvos pudiera tener efectos importantes sobre las características de calidad de los productos farmacéuticos terminados.²³⁷

Propiedades tales como:

- Disolución, solubilidad, biodisponibilidad
- Procesabilidad de la forma farmacéutica
- Estabilidad de la forma farmacéutica
- Uniformidad del contenido de la forma farmacéutica
- Apariencia del producto

Estas propiedades del producto se considera que están influenciadas por el tamaño de las partículas, no sólo del fármaco sino también de los excipientes. En este sentido, la distribución del tamaño de las partículas de los polvos debe controlarse utilizando métodos analíticos y especificaciones apropiadas.²³⁷

El establecimiento de las especificaciones toma en cuenta la variabilidad de los lotes fabricados, la variabilidad de los métodos de análisis así como la repercusión que las variaciones tengan sobre las propiedades del producto.²³⁷

Una mejor funcionalidad de los excipientes se puede lograr a través del desarrollo de nuevas entidades químicas de los excipientes, de nuevos grados de los materiales existentes y de nuevas combinaciones de los materiales existentes. El desarrollo de nuevas entidades químicas para utilizarlas como excipientes requiere de varias etapas de la regulación sanitaria acerca de la seguridad y toxicidad del producto, lo cual involucra mucho tiempo y dinero. Esto equivale a proyectos con mucho riesgo, elevadas inversiones y pocas probabilidades de ganancias. El desarrollo de nuevos grados de excipientes ya

existentes (diferentes propiedades físicas y fisicoquímicas) se ha mostrado como la mejor estrategia para el desarrollo de excipientes con un mejor desempeño.²³⁷

El coprocesamiento es un método utilizable sin la necesidad de pruebas toxicológicas rigurosas como la de los excipientes completamente nuevos. Puede definirse como la combinación de dos o más excipientes ya existentes a través de un procesamiento adecuado. El coprocesamiento supone llegar a obtener propiedades de los excipientes que sean superiores a las de una mezcla física simple; supone la obtención de un producto con valor agregado en su relación de funcionalidad contra el precio.²³⁷

El proceso de desarrollo de excipientes coprocesados involucra:

- La identificación de los excipientes que se desea coprocesar, a través del estudio de sus características y de la funcionalidad que se desea tener.
- La selección de las proporciones de los varios excipientes.
- La determinación del tamaño de partícula requerido para coprocesar. Particularmente importante cuando uno de los componentes se procesa en una fase dispersa ya que el posterior procesamiento del tamaño de partícula de este excipiente depende del tamaño de partícula que tenía inicialmente.
- Selección de un proceso de secado adecuado, p.e. secado por aspersion (spray-dry) o secado instantáneo (flash-dry).
- Optimización del proceso para evitar variaciones entre un lote y otro en la funcionalidad del excipiente que se pretende obtener.

Una característica que deben poseer estos excipientes coprocesados es que deben diferenciarse en al menos una propiedad, no referida al desempeño, de la mezcla obtenida por mezclado físico simple. Un excipiente coprocesado es aquel que típicamente se obtiene por algún método de fabricación especializado como la dispersión de elevado corte, granulación, secado por aspersion o extrusión de un material fundido. La característica física o química en la que difiere el excipiente coprocesado de la mezcla física simple puede ser la causa o puede

correlacionarse con las mejoras en el desempeño del excipiente. Sin embargo, tal característica debe ser inherente, demostrable analíticamente y cuantitativamente diferente en el excipiente coprocesado, antes de su incorporación en el producto farmacéutico terminado.²⁶⁰

La determinación de las características de funcionalidad de los excipientes, en cualquiera de sus niveles: como partícula, como conjunto de partículas y como parte de una mezcla de partículas en una formulación, permite a los formuladores reducir las propiedades de los polvos a números tangibles. Los valores específicos de sus propiedades físicas, químicas y fisicoquímicas así como tecnológicas, que identifican la funcionalidad de un material, permiten establecer parámetros estadísticos y límites de corte para utilizarlos en un cierto proceso. Esto con el fin de controlar la calidad y la consistencia entre los diferentes lotes del material que se fabrican. Además de permitir una comparación inicial de la funcionalidad de los materiales obtenidos de diferente proveedor o con diferente marca comercial. La determinación de la funcionalidad de los materiales, en cualquiera de sus niveles, reduciría el costo de una experimentación muy amplia, debido a que el formulador conoce lo que puede esperar de cada material, dada su funcionalidad.²³⁷

La funcionalidad de los excipientes y su utilidad puede dividirse en tres partes, la primera de ellas es la determinación de sus propiedades para controlar la calidad y consistencia de los materiales; la segunda es la predicibilidad del desempeño del material en una formulación, a partir de las pruebas de funcionalidad subrogadas y de pruebas con formulaciones diferentes a la actual y la tercera, la comparación de la funcionalidad de un mismo tipo de materiales o excipientes de diferentes proveedores o marcas comerciales (innovadores y genéricos) así como la comparación del desempeño de materiales de diferente composición física o química.²³⁷

Aunque ni las pruebas de funcionalidad subrogada ni la funcionalidad conocida en otras formulaciones reflejan exactamente el desempeño de los excipientes en una nueva formulación, estas pruebas se pueden considerar como indicativas de

su funcionamiento, particularmente cuando los excipientes se utilizan en proporciones elevadas. Cuando los excipientes se usan en proporciones bajas, debe considerarse que conforme más se diluyan en una formulación la influencia que ejercerían sobre su desempeño sería menor, y con esto, la predecibilidad de su desempeño se volvería incierta. Por efecto de la misma dilución de los excipientes en una formulación, las diferencias en el desempeño entre excipientes innovadores y genéricos tienden a desaparecer, igualándose la influencia que ejercen sobre el desempeño de la misma. Se puede decir que la funcionalidad observada en pruebas subrogadas se mantiene o se refleja en el desempeño de la formulación que le contiene. Sin embargo, los excipientes despliegan esa funcionalidad en una magnitud variable en diferentes formulaciones.²³⁷

11.0 BIOPOLÍMEROS COMO MATERIALES EN APLICACIONES FARMACÉUTICAS

Los biopolímeros han sido ampliamente estudiados en aplicaciones farmacéuticas para modificar la liberación de principios activos, localización de los fármacos en su diana terapéutica, sobrepaso de barreras fisiológicas (tisulares y celulares) y la protección de agentes terapéuticos inestables a las condiciones fisiológicas presentes en las vías de administración menos invasivas. Así mismo, es notable la importancia en el uso de biopolímeros para el diseño de los nuevos dispositivos biomédicos combinados, en los cuales la necesidad de incorporar sustancias con actividad farmacológica ha llevado a la generación de novedosas alternativas para el tratamiento de enfermedades en el ser humano acercando el diseño de sistemas terapéuticos farmacéuticos al concepto de “diseño integral de producto a la medida”.²⁶¹

Las aplicaciones médicas y farmacéuticas de los biopolímeros constituyen actualmente uno de los campos de mayor interés en los desarrollos de macromoléculas, por su utilización como dispositivos terapéuticos

cardiovasculares, ortopédicos, oftalmológicos y dentales, sustitutos de la piel, sistemas de liberación de fármacos y sensores para propósitos de diagnóstico.²⁶¹

Los polímeros fueron incluidos oficialmente en el campo farmacéutico en 1980 en la Farmacopea Americana USP XX y desde entonces se han empleado como auxiliares de formulación en medicamentos y como materiales de envases y empaques.²⁶²

La aplicación de estos materiales en el campo biomédico y en sistemas terapéuticos farmacéuticos conlleva la formación de una interfase con el sistema biológico, que requiere alta biocompatibilidad por parte del polímero. Los polímeros biocompatibles se pueden obtener de fuentes naturales o sintéticas y al ser introducidos en el sistema biológico se consideran biomateriales poliméricos o biopolímeros.²⁶³

El desarrollo de nuevos biopolímeros ha evolucionado paralelamente a los avances en las tecnologías de síntesis, purificación y análisis, esto ha permitido orientar el tratamiento de las enfermedades al campo de la ciencia molecular, desarrollando nuevos sistemas terapéuticos en los cuales los biopolímeros son parte importante de su composición, así como su empleo en la ingeniería de tejidos. Esta situación ha hecho que la ciencia e ingeniería de polímeros cada vez tenga mayor injerencia en campos de las ciencias farmacéuticas y la medicina.²⁶⁴

Sistemas terapéuticos farmacéuticos y dispositivos biomédicos

Un sistema terapéutico farmacéutico (STF) consta fundamentalmente de un módulo de liberación, un programa terapéutico, un soporte o medio de transporte y uno o varios fármacos o principios activos.²⁶¹

El módulo de liberación es la parte del sistema que garantiza la entrega del fármaco o sustancia activa de acuerdo con un programa terapéutico, establecido en el diseño. Ahí puede encontrarse una cámara simple o múltiple que almacena el principio activo, el reservorio; la vía o puerta de salida, que puede ser la

superficie entera del dispositivo, uno o varios orificios o una cánula; los elementos que generan el potencial químico o mecánico para la liberación, que pueden ser gradientes de concentración, desplazamiento de émbolos, imanes o campos eléctricos.²⁶⁵

El programa terapéutico incluye aquellos elementos que definen velocidad y tiempo de liberación, tratando de seguir ritmos fisiológicos internos. De esta forma se puede programar el perfil farmacocinético según las necesidades terapéuticas, se disminuyen efectos secundarios y se reduce el incumplimiento por parte del paciente.²⁶⁶

El soporte integra todos los elementos y entra en contacto con el biosistema; requiere adaptación completa al lugar anatómico de emplazamiento final y ha de ser inerte en relación al fármaco y al medio.²⁶⁷

Los STF pueden ser clasificados como sistemas pasivos en los cuales se encuentra un elemento del tipo membrana semipermeable, o una cubierta cuya capacidad para liberar el fármaco queda plenamente establecida en el momento de la elaboración. También se encuentran los sistemas activos en los cuales la forma farmacéutica tiene un control que se activa por una señal externa, con el fin de modular la liberación del fármaco.²⁶¹

Aplicaciones farmacéuticas

- Biopolímeros para modificar la liberación de fármacos

El empleo de los biopolímeros en el control de la liberación busca la dosificación del fármaco a través de la matriz polimérica en flujos dentro de su ventana terapéutica, esto conlleva a la reducción de efectos adversos por fluctuación en las concentraciones plasmáticas del fármaco y la disminución del número de dosis necesarias del medicamento.²⁶⁸

- Sistemas de liberación controlada por difusión

La difusión del fármaco es regulada por el biopolímero desde el sistema terapéutico hacia su exterior formando una membrana que rodea el fármaco, creando un reservorio. Esta forma de liberación se presenta en

implantes, sistemas transdérmicos y dispositivos de administración oral, como sistemas matriciales.²⁶⁹

- Sistemas de liberación controlada por activación de solvente

En estos dispositivos la velocidad de liberación del fármaco es controlada por la velocidad de difusión del agua hacia su interior. El sistema polimérico puede hincharse, generando canales o poros para la salida del fármaco, o en otros casos impulsarlo por un sistema osmótico, como el caso de la bomba osmótica, que emplea membranas rígidas semipermeables a base de acetato de celulosa. El sistema ha sido empleado en la administración de fármacos como ibuprofeno, pseudoefedrina y nifedipino, entre otros.²⁷⁰

- Sistemas de liberación controlada por reacción química o enzimática

La liberación del fármaco está determinada por una reacción química de tipo hidrolítico o enzimático, en este caso los polímeros biodegradables están constituidos principalmente por monómeros biocompatibles, que se eliminan del organismo por rutas fisiológicas convencionales sin generar alteraciones homeostáticas de este.²⁷¹

- Sistemas de liberación controlada por el ambiente fisiológico

Algunos polímeros han recibido la denominación de “inteligentes” por responder súbitamente a modificaciones de las condiciones físicas o químicas en el ambiente con cambios pronunciados en sus propiedades. Los estímulos a los que responden los polímeros pueden ser: físicos, como la temperatura, la fuerza iónica, los solventes, radiaciones, campos eléctricos, estrés mecánico, presión, radiaciones sónicas y campos magnéticos; químicos, como el pH, iones específicos y agentes químicos; y bioquímicos, como sustratos de enzimas, ligandos afines y otros agentes biológicos.²⁷²

Los materiales con estas propiedades son polímeros como la poli(N-isopropilacrilamida)(PMIPAA), que presenta precipitación inducida térmicamente a 32°C (temperatura crítica mínima de solución). También se han desarrollado especialmente para uso en inyectables copolímeros

tribloque biodegradables de poli (etilenglicol-b-(DL-ácido láctico-co-ácido glicólico)) (PEG-PLGA-PEG y PLGA-PEG-PLGA), que gelifican térmicamente, permitiendo su administración en forma de soles y su posterior gelificación en el interior del organismo.²⁷³

Los polímeros sensibles al pH tienen importancia en la modificación de la liberación de fármacos, debido a los diferentes pH presentes en el cuerpo que pueden modular su localización en lugares específicos o en condiciones fisiológicas especiales, los polímeros como el quitosano o hidrogeles de ácidos acrílicos son algunos ejemplos.²⁷⁴

En este grupo se encuentran además los hidrogeles bioadhesivos, que forman enlaces de hidrógeno y asociaciones moleculares con la glicoproteína mucina, siendo el más conocido el poli (ácido acrílico) ligeramente entrecruzado o Carbomero^R.²⁷⁵

Algunos estudios se han enfocado en la consecución de hidrogeles con respuesta a glucosa, basados en sistemas autorregulados sensibles a un sustrato, atrapando en su superficie enzimas (glucosa oxidasa) que al estar en presencia del sustrato generan subproductos que alteran el pH circundante (ácido glucónico) y median la liberación del fármaco. Estos sistemas son elaborados por inmovilización de glucosa oxidasa y catalasa en geles de poli (dimetil aminoetil metacrilato-g-etilenglicol) en forma de discos y micropartículas.²⁷⁶

En el desarrollo de sistemas inteligentes, los dispositivos tipo gatillo presentan una liberación súbita de su contenido al ser estimulados por un sustrato específico, y han mostrado ser de gran utilidad en el tratamiento de adictos a morfina, al liberar naltrexona (antagonista) como respuesta a la presencia de la sustancia en el organismo. Se fundamentan en sistemas terapéuticos con recubrimientos impermeables que contienen enzimas atrapadas para su degradación pero que son únicamente activadas por la molécula estimuladora sustrato-específico (morfina).²⁷⁷

- Sistemas de liberación particulados

El tamaño de la partícula es determinante en la velocidad de disolución mientras menor sea su tamaño, mayor será el área superficial disponible para la disolución. En el diseño de los novedosos sistemas de liberación modificada se cuenta con: (i) microcápsulas, similares a sistemas tipo reservorio; (ii) microesferas, similares a sistemas monolíticos; (iii) conjugados de biopolímeros-proteínas o biopolímeros-fármacos, para localizar y proteger los principios activos; (iv) micelas poliméricas, para transportar fármacos poco solubles y (v) liposomas.²⁶¹

Respecto a los conjugados con proteínas, estos tienen una vida media corta en el plasma, para aumentarla se han conjugado con polietilenglicol (PEG), que protege a las proteínas de la degradación enzimática y por ende disminuye su inestabilidad; en cuanto a los conjugados con fármacos son estables en plasma y han sido empleados para tratamientos contra el cáncer por la retención y permeabilidad que se logra en las células tumorales, siendo el más utilizado la poli(N-(2-hidroxi-propilmetacrilamida)(HPMA).²⁷⁸

De otra parte, las micelas poliméricas (copolímeros de bloque anfifílico) se utilizan como sistemas de liberación de fármacos por la capacidad para solubilizar fármacos poco solubles en agua e incrementar su biodisponibilidad, los más empleados son los polímeros de PEG. Los liposomas pueden atrapar tanto solutos solubles en agua en su capa interna, como solutos liposolubles en las bicapas lipídicas, ofreciendo protección a las sustancias contenidas en su interior y una reducción de los efectos adversos a nivel sistémico.²⁷¹

El empleo de las nanopartículas cobra importancia en los estudios de liberación de fármacos, por la capacidad que presentan para transportar una gran variedad de sustancias a distintas zonas del organismo, manteniendo un efecto sostenido en el tiempo; los biopolímeros más empleados han sido poli (ácido láctico) (PLA), poli (ácido glicólico) (PGA) y sus copolímeros poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA).²⁷⁹

- Empleo de polímeros estrella

Los polímeros estrella corresponden a una nueva generación de estructuras poliméricas altamente ordenadas y ramificadas de construcción arborescente, con monodispersión de tamaños. Su arquitectura estructural presenta tres componentes básicos bien definidos, un cuerpo, una cápsula interior y grupos funcionales terminales, que permiten adecuar estos sistemas para aplicaciones a la medida de las necesidades del paciente; entre los más utilizados están los dendrímeros, como las poli (amidoaminas) (PAMAM).²⁸⁰

La formación de sistemas particulados con formas y tamaños bien definidos es de gran interés en aplicaciones para la liberación de fármacos y transfección de genes. Los agentes bioactivos pueden encontrarse encapsulados en el interior de los polímeros estrella, unidos químicamente o adsorbidos físicamente a la superficie de los dendrímeros. Estos sistemas terapéuticos, sin embargo, han presentado desventajas atribuidas a la gran cantidad de cargas positivas presentes en la superficie, que los hacen no biocompatibles con las membranas fisiológicas, por lo cual se han introducido moléculas de PEG y ácidos grasos en su superficie que apantallan o neutralizan las cargas superficiales de estos.²⁸⁰

En el desarrollo de dendrímeros hidrosolubles la superficie amínica de PAMAM se modifica con Tris (hidroximetil aminometano, TRIS), para ser empleado con fármacos aromáticos carboxílicos como antibacteriales que se liberan a pH bajos.²⁸⁰

Biopolímeros para localizar selectivamente fármacos en el organismo

El desarrollo de materiales en este sentido busca esencialmente la reducción de efectos adversos al localizar la terapia en su diana terapéutica, condición de gran utilidad cuando los principios activos son muy tóxicos.²⁶¹

- Localización en tumores

El diseño de sistemas quimioterapéuticos direccionado a tumores se basa en el concepto de localización pasiva, donde las partículas gruesas son acumuladas en el tejido tumoral debido a que presentan un lecho capilar poroso que favorece la captación de partículas gruesas que son introducidas a las células normales sanas únicamente por procesos de endocitosis. De ahí que se busqué el incremento del tamaño de los agentes quimioterapéuticos ligándolos a polímeros solubles (sistemas de liberación controlados química o enzimáticamente), encapsulación de nanotransportadores, como nanoesferas poliméricas, micelas poliméricas, emulsiones lipídicas, liposomas y polímeros tipo estrella.²⁸¹

Los conjugados de polímero-fármaco se han explorado como uno de los nuevos enfoques en la quimioterapia del cáncer. Los fármacos pueden ser conjugados al polímero empleando varias uniones degradables, además los diferentes ligandos pueden ser unidos a la columna polimérica para una localización específica del fármaco, como en el caso de la Doxorubicina, Paclitaxel, Camptotecina o Platino, que se conjugan a polímeros de N-(2-hidroxipropil) metacrilamida (HPMA), poliglutamato y polietilenglicol, estos polímeros conjugados tienen como ventaja aumentar la solubilidad y/o aumentar el tiempo de vida útil y biodisponibilidad de los principios activos, reduciendo la dosis requerida y la toxicidad asociada a estos. Se ha comprobado mediante estudios que los conjugados de N-(2-hidroxipropil) metacrilamida (HPMA) y Doxorubicina incrementan la afinidad del fármaco por los melanomas, además de aumentar en un orden de cinco a diez veces la dosis tolerada por el organismo.²⁸²

- Bioadhesión – mucoadhesión

La bioadhesión es un fenómeno en el cual dos materiales, siendo al menos uno de ellos de naturaleza biológica, son mantenidos juntos por medio de fuerzas interfaciales por períodos de tiempo prolongado, y ha sido estudiada en el campo farmacéutico para localizar la liberación de los fármacos en su sitio activo o de máxima absorción. El diseño de

productos mucoadhesivos permite la administración sobre mucosas, oral, gastrointestinal, nasal, oftálmica y vaginal.²⁸³

En la administración transdérmica el efecto de bioadhesión incrementa notablemente la absorción de los agentes farmacológicamente activos, como en el caso de parches transdérmicos a base de Carbopol^R 934, que se comporta como bioadhesivo. También han sido explorados como vehículos mucoadhesivos en rutas oftálmicas polímeros porlianiónicos, como poli (ácido galácturónico), carboximetilquitina y polímeros a base de ácido hialurónico, en el transporte de sales de Ciclopentolato y Pilocarpina, incrementando el tiempo de acción en el tratamiento del glaucoma.²⁸⁴

Gracias al efecto bioadhesivo ha sido posible localizar terapias sostenidas en el tiempo dentro del estómago, para el tratamiento de erradicación de *Helicobacter pylori*, mediante el empleo de nanopartículas bioadhesivas a base de glidina (proteínas de gluten de trigo).²⁸⁵

- Adición de moléculas biorreconocibles e impresión molecular

Estos métodos son de desarrollo reciente y se caracterizan por ser más selectivos en la localización activa de fármacos. Se han identificado algunas moléculas biorreconocibles para el uso específico en terapias localizadas, por ejemplo, la lecitina (glicoproteína), para que sea reconocida por los componentes glicosilados de la mucosa nasal, y aumenten así la absorción de nanopartículas a base de poli (etilenglicol)-poli(ácido láctico) que pueden ser empleadas para el transporte de fármacos destinados a actuar a nivel del cerebro.²⁸⁶

La impresión molecular es una técnica reciente para la creación de polímeros sintéticos que presenten una alta sensibilidad por moléculas pequeñas, incluye la polimerización de monómeros funcionales previamente ligados a una molécula plantilla de interés, la cual es extraída del polímero entrecruzado, quedando una estructura polimérica complementaria y de alta afinidad por esta.²⁸⁷

Los materiales de mayor interés para ser tratados por esta tecnología son los polímeros basados en silicio, metacrilatos y acrilatos, permitiendo la consecución de terapias inteligentes o a la medida de la necesidad del paciente, como se presenta en la impresión molecular de plantillas de glucosa a copolímeros de 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA) y poli(etilenglicol) dimetacrilato (PEG600DMA) que pueden emplearse en atrapamiento de glucosa plasmática o para el desarrollo de sistemas terapéuticos de liberación mediada por esta sustancia endógena, en terapias de diabetes insulino dependientes.²⁸⁷

En algunos casos la localización de las sustancias activas se consigue por medio de recubrimientos poliméricos superficiales, como en el caso de nanopartículas a base de poli (butilcianoacrilatos) recubiertas con polisorbato 80, que generan la adsorción de ApoE (apolipoproteína), la cual es transportada endógenamente al cerebro, donde interactúa con receptores específicos de LDL (lipoproteína de baja densidad), útiles para el transporte de fármacos para acción local en el cerebro.²⁶¹

Biopolímeros para mejorar el sobrepaso de fármacos a través de barreras tisulares o celulares

El sobrepaso de barreras es un paso fundamental en la consecución de la acción de los sistemas farmacológicamente activos, constituye un punto central en la investigación de formas farmacéuticas con un mínimo nivel de invasión y permite la administración de fármacos por diferentes rutas: oral, nasal, transdérmica, pulmonar, bucal, ocular, vaginal y rectal, con el fin de reemplazar favorablemente la vía intravenosa de poca acogida por los pacientes, especialmente cuando se trata de terapias crónicas, como en el tratamiento de diabetes insulino dependientes.²⁸⁸

Una de las aplicaciones en la administración por vía oral de macromoléculas activas (péptidos o proteínas) es el empleo de polímeros aniónicos basados en poli (ácido acrílico) (PAA) o poli (ácido metacrílico) (PMAA), que atrapan iones calcio en la luz intestinal, generando modificaciones en la membrana

gastrointestinal y facilitando el ingreso de las macromoléculas. Como alternativa para la administración de insulina, esta puede unirse a moléculas biorreconocibles por la membrana intestinal, empleando hidrogeles sensibles al pH, como poli (ácido metacrílico) con cadenas de polietilenglicol (PEG) injertadas P(MAA-g-EG), cargados con insulina conjugada a transferir, que aumenta notablemente su permeabilidad, al ser reconocida por los receptores de las membranas intestinales.²⁸⁷

En el caso de productos administrados por vía transdérmica se presentan ventajas en cuanto a la ausencia de enzimas proteolíticas y evasión del efecto de primer paso, pero presenta impedimentos en la permeación de sustancias hidrofílicas y de alto peso molecular. Los avances en esta ruta incluyen métodos ultrasónicos que buscan la alteración en la permeabilidad del estrato córneo.²⁸⁹

La tendencia en el paso de barreras celulares es la formación de un complejo fármaco-transportador que es colocado sobre la superficie de una célula, este es introducido en un endosoma rodeado por una membrana que acidifica su entorno, a las pocas horas el endosoma circulará hasta los lisosomas ricos en enzimas descomponiendo el contenido endosomal. Entonces, para generar una respuesta a nivel celular (terapia génica), es necesario que el agente activo escape del endosoma antes de que sea embebido en los lisosomas.²⁶¹

Se ha estudiado el comportamiento de polímeros a base de ácido alfa-alquilacrílico en solución, que pueden protonarse en medio ácido interactuando y desnaturalizando las membranas endosomales, permitiendo la liberación del principio activo en el citosol, siendo de utilidad para productos de transfección genética no viral.²⁹⁰

Biopolímeros para proteger la estabilidad de los fármacos

La protección de sustancias activas es un tema que ha tomado importancia en los últimos años principalmente por el creciente desarrollo de productos biotecnológicos, generalmente péptidos y proteínas, debido a que los medios fisiológicos presentan condiciones adversas como: pH, fuerza iónica y actividad

enzimática principalmente en rutas de baja invasión (oral y mucosas), lo que hace más desafiante el desarrollo de STF. Inicialmente estos productos fueron administrados exclusivamente por vía intravenosa o subcutánea, pero con los avances en biopolímeros y la modificación superficial de los materiales se ha logrado incursionar con formulaciones para diferentes vías de administración sin que se afecte la biodisponibilidad que presenta la vía intravenosa.²⁹¹

Otra situación en donde es necesario proteger el fármaco del ambiente fisiológico, es en el empleo de sistemas particulados administrados por vía intravenosa, porque se puede promover la formación de trombos o la eliminación rápida por el sistema inmune, debido a la poca biocompatibilidad de los polímeros que se emplean.²⁶¹

Tratamientos y estrategias no trombogénicas

La investigación en la capacidad de los materiales para adherir o adherirse a células ha sido fundamental en el desarrollo de dispositivos biomédicos y farmacéuticos y en la prevención de la trombogénicidad. La trombogénicidad es definida como la capacidad de un material a inducir o promover la formación de tromboembolia, producto de la agregación de plaquetas o polimerización de fibrinógeno.²⁹² La reducción de la trombogénicidad se ha alcanzado mediante el empleo de procedimientos como los que se detallan en seguida:

- Inserción de hidrogeles
Se fundamenta en la disminución de la energía libre interfacial, simulando el comportamiento de la interfase endotelio-sangre, se emplea el método de recubrimiento por radiación o fotoinserción para ligar hidrogeles a la superficie de los sistemas particulados (micropartículas).²⁹³
- Inmovilización de polietilenglicol (PEG)
La inmovilización de polímeros sintéticos hidrosolubles a base de PEG a la superficie de los sistemas terapéuticos en porciones localizadas ejerce una repulsión estérica sobre las proteínas y células sanguíneas, haciéndolos hemocompatibles. La inmovilización se logra por adsorción,

atrapamiento superficial, entrecruzamiento con PEG o con sus polímeros estrella, copolimerización con PEG, inmovilización química y formación de copolímeros de bloque.²⁹³

- Recubrimiento con albúmina o alquilación de superficies

La albúmina es una proteína que presenta efectos antitrombogénicos, por tanto el recubrimiento de superficies con esta contribuye a evitar la formación de trombos; la alquilación se ha empleado para aumentar la afinidad de las superficies a la albúmina plasmática, consiguiéndose el efecto antitrombogénico.²⁶¹

También, se han sintetizado derivados de estructura similar a la heparina que impiden la sustitución por otras proteínas plasmáticas.²⁹³

- Diseño de superficies que imitan membranas celulares

El recubrimiento “bioimitador” de materiales poliméricos con fosforilcolinas para disminuir su efecto trombogénico se basa en la imitación de las propiedades superficiales presentes en las células naturales, cuya membrana celular está compuesta principalmente por fosfatidilcolinas. Esta técnica se ha empleado en el recubrimiento de materiales con base en silicona, utilizados en implantes no biodegradables, que pueden presentar encapsulamiento por parte del organismo.²⁹⁴

Protección contra la actividad proteolítica en el intestino

En la estabilización de proteínas, se han logrado numerosos avances, específicamente en la administración oral de la insulina. Para proteger principios activos del ambiente gástrico se han utilizado hidrogeles sensibles al pH como polímeros a base de poli (acrilatos) que impiden la liberación de los agentes terapéuticos en la luz gástrica. Sin embargo, el intestino presenta gran cantidad de enzimas proteolíticas que pueden disminuir la biodisponibilidad de los agentes terapéuticos.²⁸⁸

El reto de diseñar sistemas que liberen selectivamente los agentes terapéuticos en la luz del colon, por ser esta zona la de menor carga enzimática del tracto gastrointestinal, ha llevado a la síntesis de polímeros con base en comonomeros

ácidos y con entrecruzamientos azoaromáticos, que además presentan la ventaja de ser enzimáticamente degradables por los microorganismos específicos del colon.²⁹⁵

Unión al epitelio gastrointestinal

La vacunación por vía oral se utiliza para la protección contra patógenos entéricos y de la mucosa tales como *E. coli*, *Salmonella* y *Shigella*, también contra *N. gonorrhoea*, *N. meningitidis*, *H. pylori*, *Giardia* y *Cryptosporidium*; sin embargo, su efectividad es limitada debido a que la mayoría de antígenos no resisten la degradación en el intestino, por tal motivo se han desarrollado nanopartículas biodegradables de PLG (poliláctico-coalicólico), ligadas a proteínas biorreconocibles por las células “M” antígeno específicas, las cuales están recubiertas por parches Peyer, que corresponden a agregaciones de tejido linfóide que se encuentran en la porción más baja del intestino delgado (íleon) y son altamente fagocíticos o pinocíticos, constituyéndose en una puerta directa para liberación al tejido linfóide.²⁶¹

Protección de fármacos en diseños para inhalación

Las características únicas de los pulmones como: gran área superficial, alta permeabilidad y amplio suministro de sangre, hacen esta ruta potencial para la administración de péptidos y proteínas; sin embargo, los aerosoles de inhalación tradicionales presentan problemas de agregación de partículas que les impide alcanzar el pulmón y las que llegan son degradadas por los macrófagos debido a su menor tamaño, haciendo esta ruta poco eficiente y de corta duración para el contacto.²⁶¹

Se han diseñado nanopartículas a base de biopolímeros como hidroxipropil celulosa, poliestireno modificado y fosfolípidos como el dipalmitoil DL- α -fosfatidilcolina que permiten mejorar la absorción de los principios activos, atravesar los tejidos y localizarse en células, además de proteger los principios activos de los macrófagos alveolares.²⁹⁶

Esta clase de sistemas se han empleado en la farmacoterapia del dolor para administración de opiáceos como la morfina, mostrando ventajas en el tratamiento del dolor severo por presentar una respuesta rápida y reproducible en el tiempo, se han utilizado para la liberación de epinefrina en tratamientos de anafilaxis, mostrando ventajas por su rapidez en el inicio de la acción y en la liberación de insulina.²⁹⁷

Protección frente a la opsonización de proteínas

La opsonización es un fenómeno por el cual el sistema fagocítico mononuclear o sistema retículoendotelial (MPS o RES), reconoce y destruye las nanopartículas transportadoras de fármacos, ligadas a las opsoninas, que son reconocidas por los macrófagos del hígado o células Kupffer, antes de que alcancen el sitio de acción. Este comportamiento natural del organismo es el mayor obstáculo que deben enfrentar los sistemas terapéuticos nanoparticulados.²⁶¹

Los avances para superar este inconveniente se basan en la modificación de superficies por inserción de PEG que vuelve “sigilosas” a las nanopartículas; también el empleo de polímeros hidrofílicos no iónicos, como polisacáridos, poliacrilamida, alcohol polivinílico, poli (N-vinil-2-pirrolidona) como agentes de recubrimiento, cuyo espesor de película determina la eficiencia de la protección.²⁹⁸

Aplicaciones en el diseño de dispositivos biomédicos

Algunos de estos productos tienen en su composición biopolímeros, principalmente aquellos destinados a reemplazar tejidos y órganos blandos, como el caso de corazones artificiales a base de poliuretanos, lentes de contacto suaves a base de polihidroxietilmetacrilatos (PHEMA) entrecruzados con etilenglicol dimetilacrilato (EGDMA), articulaciones a base de dimetilsiloxano, entre otros. El uso especializado de estos materiales requiere el cumplimiento de estándares internacionales, para su comercialización y utilización.²⁹⁹

Sistemas de liberación de fármacos sobre lentes de contacto

Los lentes de contacto suaves e hidrofílicos son dispositivos biomédicos a base de hidrogeles como poli (2-hidroxietil metacrilato) (PHEMA) ligeramente entrecruzado con etilenglicol-di-metacrilato (EGDMA), permeables al oxígeno. Estos lentes de contacto suaves han mostrado potencial uso como sistemas de liberación de fármacos porque pueden absorber agentes activos solubles en agua y actuar como reservorios dependiendo de la hidrofiliidad y peso molecular del fármaco, lográndose una liberación continuada del principio activo en períodos de tiempo superiores a los alcanzados con las formas convencionales tipo gotas oftálmicas. Por las razones anteriores han sido empleados para liberar fármacos introducidos por medio de una saturación previa del lente en una solución del principio activo; los resultados de la farmacoterapia han sido favorables para gentamicina y tobramicina, en términos de la concentración alcanzada sobre la mucosa ocular. Sin embargo, la tendencia se orienta al desarrollo de lentes de contacto con nanopartículas dispersas que permiten una baja velocidad de liberación durante períodos prolongados de tiempo.³⁰⁰

De otra parte, se han insertado fármacos como levofloxacin (antibiótico), en forma de láminas sobre los lentes; estas láminas del fármaco se elaboran mezclándolo con poli (alcohol vinílico) y recubriéndolo con un copolímero de bloque a base de estireno (etil/buteno), obteniendo sistemas con velocidad de liberación adecuada, que presentan ventajas en cuanto a absorción y efecto farmacológico.²⁶¹

El reto en el diseño de nuevos materiales

Desde la perspectiva de la ingeniería de materiales el desafío para el desarrollo de nuevos biopolímeros con potenciales aplicaciones al campo de la salud requiere, entre otras, las siguientes consideraciones:

- a) Toxicidad: el biopolímero no debe generar reacciones tóxicas al organismo, incluidas aquellas sustancias que puedan migrar y ocasionar

irritación sobre la piel o las mucosas, para tal efecto se debe evaluar la duración del contacto entre el polímero y la superficie biológica, y si es de forma interna y externa en el organismo. También es posible evaluar la respuesta sobre células para efectos de evitar daños sobre material genético, genotoxicidad, carcinogenicidad y toxicidad reproductiva.³⁰¹

- b) Biocompatibilidad: se refiere a la aceptación por parte del sistema inmunitario del individuo, de un cuerpo extraño, la respuesta del hospedero incluye resistencia a la coagulación de la sangre, resistencia a la colonización bacteriana y una cicatrización normal sin complicaciones. Corresponde a un efecto de doble vía, el material no debe producir respuestas adversas al medio biológico como citotoxicidad, irritación y sensibilidad, tampoco debe atacarlo, a menos que sea biodegradable.³⁰²
- c) Biodegradabilidad: corresponde a la degradación por acción de un organismo viviente en contraste con las degradaciones producidas por mecanismos físicos o químicos. La degradación se refiere a la descomposición y destrucción de los enlaces macromoleculares, ya sea por efecto de elevadas temperaturas, soluciones alcalinas, ácidas, luz ultravioleta u otras condiciones ambientales, provocando el rompimiento de las cadenas del polímero, lo cual lo hace irreversible y además contaminante. En la fisiología humana se habla de “biodegradación”, puesto que un polímero implantado en un tejido del cuerpo se encuentra bajo la acción de un sistema biológico y su degradación obedece a una descomposición orgánica sin causar daños, contaminación, ni infección. Entre los factores que aceleran la degradación de un polímero se encuentran: la presencia de grupos hidrofílicos, grupos hidrofílicos terminales, grupos reactivos hidrolíticos en la cadena, menor cristalinidad, alta porosidad y diseño de dispositivos de menor tamaño.³⁰³
- d) Requerimientos mecánicos y desempeño: cada biomaterial tendrá sus propios requisitos, que pueden dividirse en eficiencia mecánica, durabilidad y propiedades características según el tipo de producto en donde se empleen. Los polímeros presentan una resistencia y rigidez

menor que otros biomateriales, deben cumplir con exigencias como alta resistencia mecánica, relativa flexibilidad, alta tenacidad y resistencia al desgaste y a la fatiga en caso de emplearlos para implantes permanentes.²⁶³

Las propiedades conferidas a los polímeros permiten su empleo en el campo biomédico y farmacéutico y una de las aplicaciones más promisorias, es en el mejoramiento de los mecanismos de adhesión, prevención de fallas adhesivas por modificaciones de la superficie, desarrollo de polímeros pegantes dependientes de tiempo, temperatura y presión, y adhesión específica a sistemas vivos bien sea células o polímeros naturales del organismo; así como el diseño de microdispositivos que pueden administrarse por vía oral y que contienen reservorios de fármacos, especialmente péptidos y moléculas de origen biológico.³⁰⁴

Es evidente el gran avance científico y tecnológico que ha traído consigo la incursión de los biopolímeros en el área de la salud, al permitir un mejoramiento sobre los sistemas terapéuticos convencionales en términos de la modificación en la liberación de fármacos orientados a lograr terapias “inteligentes” o a la medida de las necesidades de cada paciente, la localización de fármacos a su diana farmacológica o sitio de mayor absorción para mejorar la biodisponibilidad, el sobrepaso de barreras fisiológicas y la protección de principios activos frente a las condiciones fisiológicas agresivas.²⁶¹

El vertiginoso desarrollo de sustancias con actividad farmacológica obtenidas por biotecnología ha exigido la investigación sobre nuevos materiales que contribuyan en la formulación de sistemas de entrega estables como producto terminado y a su vez mantengan la integridad dentro del organismo, durante el tiempo de acción. Esta necesidad ha llevado al desarrollo de novedosas técnicas de modificación a la estructura de polímeros, produciendo una nueva generación de biopolímeros con propiedades específicas, que representan un potencia importante para la formulación de esta clase de productos.²⁶¹

Otra tendencia que sobresale en forma notable es la modificación superficial de materiales conocidos para la consecución de propiedades superficiales deseables en la funcionalidad de los sistemas terapéuticos diseñados “a la medida”, con el fin de mejorar los resultados que se alcanzan con el uso de formas farmacéuticas convencionales.²⁶¹

Esta revisión constituye un valioso aporte al recopilar la información actual y mostrar una visión global de las nuevas tendencias en el diseño y desarrollo de productos farmacéuticos y biomédicos, así como las características de los materiales empleados para este fin. Sin embargo, su vigencia podría ser corta, en la medida que cada día se están dando constantes avances en ciencia e ingeniería de materiales que no dejan de ser sorprendentes.²⁶¹

12.0 ASPECTOS SANITARIOS DE LA NANOTECNOLOGÍA

La agencia sanitaria de los Estados Unidos de Norteamérica, la FDA, explica que los materiales en la nanoescala frecuentemente tienen propiedades físicas, químicas y biológicas que son diferentes a las mostradas por sus contrapartes de mayor tamaño. Estas diferencias incluyen alteraciones en las propiedades magnéticas, eléctricas y ópticas, una mayor integridad estructural o alteraciones en sus propiedades químicas y de actividad biológica. Se considera que debido a tales alteraciones en las propiedades de los materiales en la nanoescala estos pueden poseer diferencias en los temas de seguridad ya establecidos para sus contrapartes de mayor y de menor tamaño (a nivel molecular). La FDA se encuentra estudiando continuamente como es que las propiedades de los nanomateriales pueden afectar los controles, los estándares, las especificaciones, el desempeño de los productos y si es que estas propiedades complican el desarrollo y la manufactura de estos productos.³⁰⁵

Desde el punto de vista del control de la calidad, algunos parámetros de los nanomateriales que podría influir los atributos críticos de los productos nanotecnológicos podrían incluir:

- El tamaño de partícula y su distribución
- El área superficial, las características químicas de las superficies, el recubrimiento de la superficie, la porosidad
- La hidrofiliicidad, la densidad de cargas sobre la superficie
- La pureza, la esterilidad
- La estabilidad (agregación, adsorción de proteínas)
- Verificar si el comportamiento in vitro refleja el comportamiento in vivo

Otros parámetros que influirían la calidad son el proceso de manufactura y los controles que se apliquen durante su desarrollo. Para el producto terminado serían de relevancia pruebas acerca de la liberación del fármaco y consideraciones acerca de su bioequivalencia.³⁰⁵

Entre las consideraciones preclínicas de los medicamentos nanotecnológicos se podrían incluir estudios in vitro; los cuales tendrían como objetivo las barreras para la unión a los receptores, la capacidad de las células para capturar o adquirir estos medicamentos y los estudios de citotoxicidad. Entre los estudios con modelos in vivo, las consideraciones preclínicas incluirían estudios acerca de la eficacia/prueba del concepto; estudios con imágenes; estudios especiales de toxicología, quizá estudios funcionales y acerca del estudio de los mecanismos de adquisición o captura de estos medicamentos por el tejido así como su eliminación.³⁰⁵

Los fulerenos (moléculas C₆₀ y C₇₀) y sus derivados tienen potencialmente muchas aplicaciones en los productos farmacéuticos, por ejemplo, como medicamentos contra el SIDA, como agentes de contraste para rayos X y como transportadores de sistemas de suministro de fármacos. Sin embargo, algunas investigaciones muestran que las moléculas de C₆₀ puras tienen como efectos tóxicos, la creación de poros en las membranas celulares a través de los cuales habría fugas del contenido celular. Estas mismas investigaciones muestran que el cambio en las propiedades de superficie de estas moléculas disminuye drásticamente su toxicidad, hasta el punto que se evitan las fugas a través de las

membranas. Las moléculas de C_{60} penetran rápidamente las membranas celulares, en tiempos de milisegundos. Sin embargo, las moléculas funcionalizadas con hidroxilos ($C_{60}(OH)_{20}$) no podrían atravesar las membranas celulares tan fácilmente, aunque también se adsorben sobre la superficie de las membranas, disminuyendo el espaciamiento entre los lípidos que se encuentran ahí.³⁰⁵

Hay muchos casos en que la toxicidad sería deseable, por ejemplo para matar células cancerosas o de bacterias peligrosas. Un nano-agregado de C_{60} ha mostrado un efecto de toxicidad masiva sobre fibroblastos de la piel mientras que $C_{60}(OH)_{20}$ fue mucho menos tóxico. En general, las moléculas con mayores modificaciones de su superficie fueron menos tóxicas. Esto indicaría que el control de las propiedades de superficie de los fulerenos sería de utilidad en el control de su toxicidad. Esto indicaría también la posibilidad de que la toxicidad de otras nanopartículas fuera modificada la modificar sus propiedades de superficie.³⁰⁵

La nueva ciencia desarrollada con nanotecnología debe tener rigurosos estudios de cómo serán las normas técnicas y jurídicas a ser empleadas, desde su desarrollo, fabricación, agregado a los productos convencionales, nanoproductos y defensa de los consumidores. Esto tiene que ser considerado con muchísima seriedad, por las posibles prácticas ilícitas que puedan emplearse en contra de la salud y de la seguridad nacional. Por este y otros motivos, deben existir leyes claras y rigurosas contra personas inescrupulosas que puedan utilizar la nanociencia para hacer daños irreparables a la salud de las personas. Será la única forma que se podrá mantener y controlar el ritmo de los nuevos desafíos que la nanotecnología está trayendo.⁵

13.0 POSICIÓN ACTUAL: CASOS, TERAPIA Y MEJORAMIENTO HUMANO

La nanotecnología es una industria naciente pero los fármacos y los dispositivos médicos que se habilitan nanológicamente están ya en el mercado, y hay más que nos llega por los conductos de la minúscula tecnología: según *NanoBiotech News*, el camino de la nanomedicina y sus dispositivos nanométricos creció repentinamente 68% entre 2005 y 2006. Para mediados de 2006, 130 fármacos y sistemas de suministro, más 125 dispositivos o pruebas de diagnóstico, se hallan en un estado de desarrollo preclínico, clínico o comercial; 75% de estos productos son desarrollados en Estados Unidos. Entre los líderes en el campo de la nanomedicina están además, Canadá, Australia e Israel. Los analistas de la industria consideran que la aprobación del Abraxane (un fármaco nanológico para tratar el cáncer de mama) por parte de la FDA estadounidense, en enero de 2005, es un “parteaguas” en la nanomedicina comercial.²⁷

Cáncer

Entre la medicina y la nanotecnología están formando un arma para combatir el cáncer. Al combatir la enfermedad en escala molecular, permite detectar precozmente la enfermedad, identificar y atacar más específicamente a las células cancerígenas. El Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos (NCI) ha puesto en marcha la “Alianza para la nanotecnología en el cáncer”, un proyecto que incluye el desarrollo y creación de instrumentos para la detección precoz.²

Una de las alternativas es administrar y direccionar medicamentos. Esta nueva técnica ya es un hecho. Los nanosistemas de liberación de fármacos actúan como transportadores de fármacos a través del organismo, direccionando a las células tumorales y reduciendo el acumulo de fármacos en las células sanas.³

Los sistemas de liberación de fármacos están constituidos por un principio activo y un sistema transportador, los cuales garantizan que se pueda dirigir la liberación del fármaco al lugar que lo necesite y en la cantidad adecuada. Estos

deben cumplir con ciertas características, como lo son la baja toxicidad, propiedades óptimas para el transporte, liberación del fármaco y una larga vida media en el organismo. Todas estas características son favorecidas por la aplicación de la nanotecnología en este campo. Todo esto permite que, por medio de la fabricación de dispositivos a escala nanométrica, se libere el fármaco de la forma menos invasiva y tóxica para el tejido celular que no necesite del tratamiento farmacológico. Otra ventaja que ofrece la nanotecnología a la liberación de fármacos es el evidente aumento de la efectividad del medicamento, por medio del control preciso de la dosis requerida, del tamaño, la morfología y las propiedades superficiales del compuesto farmacológico a utilizar. Al liberarse nanopartículas de forma específica sólo en órganos, tejidos o células que lo necesiten, se disminuye la toxicidad asociada al fármaco. Por otra parte, es necesario tener en cuenta que los sistemas de administración de fármacos permiten la liberación sostenida del medicamento de acuerdo con las necesidades del paciente; lo que permite la disminución de posibles efectos adversos que se puedan presentar como consecuencia de la administración masiva y prolongada de un fármaco determinado.⁴

Otra alternativa está basada en unas moléculas artificiales conocidas como dendrímeros. Se trata de estructuras tridimensionales ramificadas que pueden diseñarse a escala nanométrica. Los dendrímeros cuentan con varios extremos libres, en los que se pueden acoplar y ser transportadas moléculas de distinta naturaleza, desde agentes terapéuticos hasta moléculas fluorescentes. En los Estados Unidos, el nanotecnólogo James Baker, aplicó un poderoso medicamento contra el cáncer, metotrexato, a algunas ramas del dendrímero. En otras, incorporó agentes fluorescentes, así como ácido fólico o folato, una vitamina necesaria para el funcionamiento celular. Su funcionalidad es como la de un caballo de Troya. Las moléculas del folato en el dendrímero se aferran a los receptores de las membranas celulares y éstas piensan que están recibiendo la vitamina. Cuando permiten que el folato traspase la membrana, la célula también recibe el fármaco que la envenena.⁵

Fármacos/Productos médicos nanológicos aprobados por la FDA

Producto/fabricante	Aprobación de la FDA	Propósito
<i>Abraxane</i> American BioScience, Inc	Enero de 2005	Nanopartículas que contienen <i>paclitaxel</i> , que aumenta la cantidad de fármaco anticanceroso disponible, para matar células cancerígenas en mama.
<i>Doxil</i> Ortho Biotech Products (el sistema de suministro basado en liposomas desarrollado por ALZA)	1999	Sistema de suministro de nanopartículas basado en liposomas recubiertos con polímeros, conocido como “Stealth” (“el furtivo”). <i>Doxil</i> es el primer producto que incorpora esta tecnología para el tratamiento de cáncer en ovarios.
<i>Emend</i> Merck – tecnología bajo licencia de Elan	Aprobado	Versión nanoparticulada del medicamento <i>Aprepitant</i> , un antiemético, utilizado para prevenir la náusea en los pacientes de cáncer que reciben quimioterapia.
<i>Rapamune</i> Wyeth – tecnología bajo licencia de Elan	2000	Formulación nanoparticulada de Sirolimus (<i>Rapamune</i>)

		para prevenir el rechazo en pacientes que reciben trasplantes de órganos.
Silcryst Pharmaceuticals/producto distribuido por Smith&Nephew como <i>Asticoat</i>	Nucryst Disponibles comercialmente desde 1998. La FDA lo aprobó para su uso sin prescripción en 2001.	Plata nanocrystalina incorporada en los recubrimientos de las heridas por sus propiedades antimicrobianas.
<i>SilvaGard</i> AcryMed, Inc.	Diciembre de 2005	Catéter recubierto con nanopartículas antimicrobianas de plata para el uso interno en el cuerpo.
<i>TriCor</i> Abbott Laboratories – tecnología bajo licencia de Elan	FDA lo aprobó en noviembre de 2004	Formulación nanoparticulada del <i>TriCor</i> (un fármaco para tratar el colesterol alto).
<i>Verigene</i> Nanosphere, Inc.	2006	Plataforma <i>In vitro</i> para probar muestras de sangre o saliva en la detección de ácidos nucleicos y proteínas que tengan concentraciones extremadamente bajas.

Abraxane es una versión nanológica de Taxol – el fármaco anticáncer derivado de la corteza del árbol del tejo, patentado por Bristol-Myers Squibb. Cuando la patente del Taxol expiró en 2000, una versión genérica, el Paclitaxel, se puso a disposición del público por US \$150 cada dosis. Abraxane es diferente porque está formulado en nanoescala y encapsulado en una cubierta de albúmina.

Puesto que las coberturas de albúmina son proteína natural, los pacientes tienen muy pocas reacciones alérgicas, lo que no sucede con el Paclitaxel (o Taxol), que ocasiona terribles efectos secundarios. La compañía cobra US \$4 200 por una dosis de Abraxane, 28 veces más que el costo del Taxol genérico.²⁷

Un ejemplo es el implante artificial de neuronas, ya aprobado por la FDA para usos clínicos, que reemplaza las neuronas dañadas por el mal de Parkinson. El dispositivo permite descargar programas actualizados, directamente de un ordenador *ex vivo* al implante en el cuerpo.²⁸

Por ejemplo, la hormona del crecimiento humano, genéticamente diseñada, obtuvo la aprobación de la FDA en 1985, con el fin de tratar el “enanismo” – una condición caracterizada por una estatura anormalmente corta ocasionada con frecuencia por una mutación genética espontánea. Hoy, la hormona del crecimiento humano es prescrita (y la FDA lo aprobó) a niños saludables cuyos padres juzgan que son muy pequeños. Sus hijos, alegan los expertos, sufren de “corta estatura idiopática”, lo que significa que no presentan signos de enfermedad; simplemente son inaceptablemente cortos de estatura. La hormona del crecimiento la usan ahora ampliamente los atletas que buscan un refinamiento de su desempeño. La hormona del crecimiento se promueve con fuerza arguyendo que tiene propiedades que combaten el envejecimiento. El “tratamiento” no es barato – la hormona del crecimiento puede costar 20 000 dólares al año y se prescribe, con frecuencia, por cuatro o cinco años. Se calcula que el mercado global alcanzará 2 000 millones de dólares anuales.³⁴

*Estimulación magnética transcraneana (TMS por sus siglas en inglés): Este es un procedimiento que estimula áreas del cerebro desde el exterior, mediante el uso de un campo electromagnético. La TMS puede ayudar a revelar las funciones de partes activas (o desactivadas) del cerebro, pero se considera como un potencial tratamiento para desórdenes cerebrales, incluido el Mal de Parkinson o la depresión. El uso de campos magnéticos para estimular o apagar diferentes partes del cerebro ha llevado a los investigadores a descubrir que las personas “normales” pueden incrementar dramáticamente su potencia cerebral.³⁶

*Tratamiento de privación del sueño: Estos no están pensados para ayudar a quienes sufren de insomnio y otros desórdenes del sueño. De hecho, están pensados para hacer sostenible la privación de éste. Los militares estadounidenses están a la vanguardia de la investigación en privación del sueño y ya financiaron docenas de proyectos, incluidos algunos estudios sobre el uso potencial de TMS para reducir la necesidad de dormir.³⁶

*Cirugía láser para ojos: En algunos casos, es ahora posible restaurar al perfecto 20-20 una visión deficiente, mediante cirugías correctivas. Millones de cirugías se ejecutan todos los años. Y el número de cirugías crece y se espera que el incremento continúe.³⁶

Dos productos son invocados con frecuencia como ejemplos del potencial que tiene la nanotecnología para responder a los principales problemas de salud del mundo en desarrollo: uno es un microbio diseñado genéticamente que sintetiza la artemisinina, la cual es un potente fármaco para combatir la malaria; el otro es un microbicida vaginal, cuya base son moléculas nanoescalares, encaminado a proteger a las mujeres del VIH/SIDA y de otras enfermedades transmitidas sexualmente.³⁵

*Ingeniería nanoescalar para producir un medicamento contra la malaria: Diseñar microbios para producir un fármaco contra la malaria que sea poco oneroso es una de las causas célebres de la biología sintética, una convergencia de la biotecnología y la ingeniería para construir sistemas de laboratorio que ejecuten tareas específicas. La malaria aflige a 300 y hasta 500 millones de personas y mata a más de un millón anualmente, 58 % de los casos de malaria ocurren entre el 20 % más pobre de la población mundial – sobre todo a niños menores que viven en África.³⁶

La artemisinina, un producto natural extraído de las hojas de una planta conocida como artemisa dulce, o ajenojo dulce en diversos tratados y sistemas de saber popular, o *Artemisia annua* según las clasificaciones, es un tratamiento eficaz contra todas las cepas de la malaria. Los chinos conocían este arbusto como

planta medicinal desde hace más de 2 mil años. La artemisinina derivada naturalmente es muy escasa. Muchos expertos consideran que es técnicamente posible cultivar cantidades suficientes de la artemisa dulce para producir artemisinina que combata la malaria de todos los que la sufren en el mundo. La síntesis química del fármaco es lenta y costosa.³⁶

*VivaGel (la miniaturización de los microbicidas): El término microbicidas se refiere a un rango de compuestos cuyo objetivo es reducir o evitar la transmisión del VIH y de otras enfermedades transmitidas sexualmente cuando se aplican tópicamente. En todo el mundo más de 7 mil mujeres se infectan con VIH todos los días. Algunas de las personas que hacen campaña en pos de la salud de las mujeres están promoviendo el desarrollo de los microbicidas porque podrían poner en manos de las mujeres una protección segura, costeable y accesible.³⁶

Uno de los microbicidas vaginales que se prueba en humanos, el vivagel (de Starpharma), se basa en moléculas nanoescalares llamadas dendrímeros – moléculas sintéticas, tridimensionales con partes ramificadoras. El ingrediente activo del VivaGel funciona como un “cierre adhesivo” molecular (estilo velcro) que imposibilita la acción del VIH y el herpes genital adhiriéndose a los receptores de la superficie del virus, lo que impide que se adjunte a las células huéspedes que intenta infectar.³⁶

VivaGel es un microbicida tópico que tiene potencial para evitar la transmisión del VIH y otras enfermedades de transmisión sexual cuando se aplica en la vagina antes de las relaciones sexuales. En los estudios con animales, el principal ingrediente del VivaGel actuó también como un anticonceptivo eficaz. Los analistas de mercado afirman que si VivaGel puede proteger contra las enfermedades de transmisión sexual y contra el embarazo, puede ser un potencial competidor de los condones. VivaGel es el primer dendrímero que pasa por el proceso de aprobación de la FDA y hoy se hacen pruebas en poblaciones de varias partes del mundo.³⁶

En teoría, los microbicidas podrían darles a las mujeres mayores posibilidades de protegerse así mismas contra el VIH sin tener que confiar en la cooperación de sus parejas. Pero la inequidad de género es la raíz del problema, y a menos que esta se enfrente, una nueva tecnología no podrá ofrecer una solución simple.³⁶

VivaGel es una tecnología privada y la estrategia de negocios de Starpharma, según afirman sus voceros, es “crear valor a partir de la nanotecnología de dendrímeros utilizando su patente internacional en todo el desarrollo del proceso, las licencias y las asociaciones”. Starpharma tiene los derechos de tres patentes estadounidenses de gran amplitud en el área farmacéutica de dendrímeros. Además, Starpharma tiene 33 % de acciones en Dendritic NanoTechnologies Inc. (DNT), la cual tiene más patentes sobre la tecnología de dendrímeros que cualquier otra compañía. (Dow Chemical Co. también tiene 33 % de acciones en DNT).³⁶

Se requerirán unos 600 millones de dólares en los próximos diez años para desarrollar un microbicida, replicable, que se mantenga en los anaqueles (en buenas condiciones) un tiempo razonable y sea atractivo para los usuarios.³⁶

En la investigación del cáncer, el fin último es desarrollar dispositivos nanoescalares multifuncionales que actúen como agente imagenológico y terapia anticancerosa.

1. Suministro de fármacos dirigido

- Nanoproyectiles de oro: Una de las áreas más publicitada de la investigación en medicina nanológica implica el uso de nanoproyectiles de oro que detecten y traten los tumores cancerosos. Aquí estamos ante un caso donde la detección y la terapia se traslapan, los nanoproyectiles son agentes imagenológicos que funcionan también como agentes terapéuticos. Aunque la idea de los nanoproyectiles se remonta a principios de los años 50, su creación se pospuso por varias décadas hasta que fue posible diseñarlos con ingeniería nanoescalar de partículas.

En los años 90, Naomi Halas, de Rice University (Houston, EU), desarrollo nanoproyectiles de oro. En 2002, ella y su colega, Jennifer West, también de Rice, formaron una empresa de innovación llamada Nanoespectra Biosciences Inc. Desde entonces, la compañía ha recibido más de 5 millones de dólares en financiamiento para desarrollar los usos médicos de los nanoproyectiles de oro (incluidos más de 3 millones procedentes de fondos federales).

Los nanoproyectiles de Halas son partículas de sílice (vidrio) completamente recubiertas de oro, construidas a partir de unos cuantos millones de átomos. Pueden producirse en un rango de tamaños, con diámetros menores a los 100 nm o tan grandes como varios cientos de nanómetros. La manufactura de los nanoproyectiles requiere técnicas de ingeniería nanológica con el fin de calibrar con finura el grosor nanoescalar del recubrimiento de oro, y que así exhiban las propiedades ópticas deseadas.

Cuando se inyectan al torrente sanguíneo, naturalmente se congregan en los sitios tumorales – por lo que no es necesario redireccionarlos. Cuando los tumores crecen, crean a veces muy rápido, muchísimos vasos sanguíneos. Como tal, esos vasos son frecuentemente deficientes, lo que permite que los nanoproyectiles se escurran por entre las “grietas” vasculares y lleguen al tumor. Detectar y bombardear tumores haciendo uso de sus defectos vasculares circundantes se conoce como “efecto de permeabilidad y retención acentuadas” o efecto EPR.

Halas describe un nanoproyectil como “una lente nanoscópica, en esencia”, pues captura la luz y luego la enfoca en torno de sí misma. Si se manipula el tamaño de los nanoproyectiles – del núcleo de vidrio y de su recubrimiento de oro – , es posible alterar la forma en que absorben la luz. En la detección y la terapia del cáncer el objetivo es “calibrar” los

nanoproyectiles para que interactúen con luz cercana al infrarrojo (conocida comúnmente como NIR por sus siglas en inglés). Cuando se les expone a una luz NIR, los nanoproyectiles actúan como un enjambre de luciérnagas que iluminan el área donde se congregan (los sitios tumorales). Una vez que los nanoproyectiles completaron sus tareas imagenológicas, se vuelven agentes terapéuticos. Si se ilumina con un láser cercano al infrarrojo el sitio tumoral desde fuera del cuerpo (la luz puede viajar a través de los tejidos más de 10 centímetros), los nanoproyectiles absorben la luz y la enfocan en el tumor. El área circundante a los nanoproyectiles se calienta y “cocina” el tumor hasta su disipación. Esto no es tan diferente del experimento de ciencia con que nos ilustraban en la infancia: El nanoproyectil funciona como una lente de aumento, el láser es el sol y el tumor se calienta como una hoja de hierba.

Halas resalta el hecho de que los nanoproyectiles no dejan “rastros tóxicos” en el cuerpo, mientras que los agentes convencionales quimioterapéuticos sí. El sitio electrónico de Nanospectra afirma que “los estudios de largo plazo no indican toxicidad alguna ni efectos sobre el sistema inmunológico”.

Estas afirmaciones deben inspeccionarse con mucho detalle ya que es muy probable que los nanoproyectiles se asienten permanentemente en el cuerpo – y no queda claro, hasta ahora, cómo podrá excretarlos.

2. Nanopartículas terapéuticas

- Los productos médicos que incorporan plata nanoescalar están entre los primeros éxitos comerciales de la nanotecnología. Aunque las propiedades antimicrobianas de la plata son conocidas hace miles de años, el incremento en el área superficial de las nanopartículas de plata diseñadas con ingeniería nanológica (de 1 a 100 nm) las torna más reactivas químicamente y resalta sus propiedades terapéuticas.

Nucryst Pharmaceuticals (una subsidiaria de Westaim Corporation) fabrica recubrimientos de heridas y quemaduras impregnados con plata nanoscópica con el fin de combatir la infección y la inflamación. La plata mata las bacterias y los virus al impedir el transporte de electrones en los microbios y desfasar la replicación celular cuando entra en contacto con el ADN. Los iones de plata (átomos que tienen una carga eléctrica debido al cambio en el número de electrones) pueden perturbar las estructuras microbianas y sus funciones. El lado problemático es que los altos niveles de iones de plata, liberados por periodos prolongados de tiempo, pueden matar también las células, por lo que debe controlarse la exposición a ellos.

Johnson & Johnson, Bristol-Myers Squibb y Medline Industries, entre otras compañías, comercializan ya productos médicos basados en plata nanoscópica. Pero los recubrimientos de heridas son sólo el principio. Dado que se calcula que las infecciones bacterianas relacionadas con la hospitalización son la quinta causa de muerte en Estados Unidos, las compañías intentan que se recubra con plata nanoscópica el instrumental quirúrgico, las sábanas de las camas y las cortinas de los hospitales. En diciembre de 2005 la FDA concedió la aprobación de un catéter (un tubo para transportar líquidos) recubierto con plata antimicrobiana para su implantación en el cuerpo humano.

3. Nanopartículas aplicadas a la imagenología y el diagnóstico biomédico
 - Los “puntos cuánticos” son nanopartículas semiconductoras que cuentan con propiedades ópticas y eléctricas únicas. Cuando se exponen a la luz, estas partículas nanoscópicas emiten claramente colores diferentes dependiendo de su tamaño. A menor tamaño del punto cuántico, mayor la brillantez del color. Aunque por décadas se han usado tintes fluorescentes en el cuerpo humano con fines de imagenología biomédica (para rastrear

los efectos de fármacos anticancerosos, por ejemplo), con frecuencia son imprecisos y sólo son visibles por periodos cortos de tiempo. Los investigadores biomédicos esperan que los puntos cuánticos fluorescentes brinden una alternativa más luminosa, más precisa y más duradera. Los puntos cuánticos fluorescentes ya se utilizan en el rastreo o la identificación del material biológico *in vitro* e *in vivo* en animales (no en humanos) con propósitos de investigación. Los puntos cuánticos pueden inyectarse a las células o adherirse a las proteínas con el fin de rastrear, etiquetar o identificar moléculas biológicas específicas. Para los investigadores biomédicos, la ventaja potencial de la utilización de puntos cuánticos en imagenología del interior del cuerpo humano es que ofrecen la “más avanzada sensibilidad de detección” – una proteína simple, a la que se adhiere un punto cuántico fluorescente, puede ser rastreada dentro de una célula viva.

La investigación actual sugiere que: en ciertas condiciones, los puntos cuánticos pueden implicar riesgos para la salud humana o ambiental. El núcleo interno de la mayoría de los puntos cuánticos está hecho de cadmio y selenio, que son conocidos como causantes (en bajas concentraciones) de intoxicaciones agudas y crónicas en vertebrados.

Con los puntos cuánticos, el tamaño, la forma y la composición de su núcleo metálico y de su cáscara exterior pueden ser un factor para determinar su toxicidad. El resultado es que “cada tipo de punto cuántico deberá caracterizarse en lo individual, para determinar su potencial tóxico”.

- Puntos de carbono. Los investigadores de Clemson University (Carolina del Sur, EUA), han desarrollado un nuevo tipo de punto cuántico a partir de carbono, y consideran que podría ser más benigno que las partículas compuestas de cadmio, selenio o plomo. Cuando se cubren

nanopartículas de carbono con polímeros especiales, destellan con brillantez cuando se les expone a la luz. Los investigadores creen que la fotoluminiscencia puede deberse a la presencia de “bolsas” que atrapan la energía o a agujeros en su superficie.

- Detectores de ADN. Nanosphere, Inc. (Illinois, EUA) han desarrollado un ultrasensible detector de ADN y de proteínas – consistente en dos instrumentos, cada uno del tamaño de una computadora de mesa – que la compañía afirma que cuenta con “niveles más sensitivos que otras técnicas de detección” y que “cambiará por completo la forma en que el mundo considera el diagnóstico”. A partir de muestras de sangre y saliva, el detector de ADN, llamado Verigene, automatiza la identificación y el análisis de ácidos nucleicos y proteínas. El detector de ADN revelará, por ejemplo, si un paciente presenta una mutación genética que lo predisponga a una enfermedad o lo haga propenso a desarrollar coágulos durante un proceso de cirugía. La compañía asevera que su producto puede detectar proteínas en concentraciones mil veces menores que los métodos actuales – permitiendo detectar una proteína liberada en el cuerpo durante un ataque al corazón, o incluso, algún día, la proteína asociada con las etapas tempranas del Alzheimer.

El sistema Verigene utiliza diferentes técnicas para detectar ADN y proteínas, pero ambos sistemas utilizan nanopartículas de oro para crear sondeos muy selectivos y sensibles. Cuando los sondeos se combinan con una muestra, sólo pueden dirigirse a – y vincularse con – la construcción genética complementaria. El sistema es capaz de identificar marcadores genéticos en una sola prueba.

- Nanosensores médicos. Los investigadores de la Universidad de Illinois desarrollan un diminuto dispositivo implantable que permitiría a los diabéticos supervisar los niveles de glucosa sin extraerse sangre. Los sensores están hechos de nanotubos de carbono – moléculas de carbono

puro en forma de cilindro – que fluorescen naturalmente cuando los ilumina una luz infrarroja. El objetivo es desarrollar un sensor que pueda implantarse justo bajo la piel y que envíe una señal óptica cuando la ilumina una luz infrarroja. En esencia, mientras más glucosa haya en el cuerpo, con mayor brillantez destellarán los nanotubos. Los sensores de glucosa implantables son únicamente el primer paso. Los investigadores confían en que algún día desarrollarán otros sensores para un amplio rango de sustancias bioquímicas tales como hormonas, colesterol o la presencia de drogas.

4. Ingeniería de tejidos/implantes

Los investigadores emplean ya tecnologías nanoescalares para impulsar una ingeniería de tejidos, con el fin de crear de tejidos y órganos totalmente biológicos o biohíbridos in vitro (es decir, en el laboratorio) que puedan implantarse de forma segura en el cuerpo humano.

- Ingeniería de tejidos. La nanotecnología juega un papel clave en la ingeniería de tejidos porque opera en la escala molecular y es capaz de integrar materiales biológicos y no biológicos. Por ejemplo, los investigadores están utilizando estructuras nanoscópicas autoreplicantes para crear colágeno artificial (es decir, proteínas del tejido conectivo que son el componente proteico principal en huesos, piel, dientes y tendones). Dado que las proteínas colágenas son un componente estructural importante en los tejidos y órganos corporales, los investigadores esperan utilizar colágeno artificial nanoestructurado como andamiaje tridimensional necesario para impulsar la regeneración celular – y que así crezcan células, tejidos e incluso órganos específicos.

Cualquier enfermedad que provenga del mal funcionamiento, del daño o las fallas de los tejidos puede curarse, potencialmente, mediante terapias de medicina regenerativa.

Transplantar vejigas que crecen a partir de las propias células de un paciente marca el inicio de una era de “medicina del rejuvenecimiento” en la cual los órganos que no se desempeñan adecuadamente – debido a enfermedades o a la edad – pueden cambiarse por modelos que funcionen mejor.

- Materiales para el injerto de huesos. Los materiales nanoescalares se utilizan en el desarrollo de injertos de reemplazo de hueso que cuentan con mayor durabilidad, bioactividad y fuerza. NanoCoatings Ltd. (Australia) está desarrollando una tecnología para producir material sintético de reemplazo de huesos que podría usarse como injerto o como recubrimiento bioactivo en articulaciones artificiales – tales como los implantes dentales y los reemplazos de caderas y rodillas. El material de injerto de huesos, aún en las primeras etapas de su desarrollo, se deriva de la hydroxyapatita – una cerámica de fosfato de calcio que surge naturalmente, y que es también un componente mineral del esmalte dental y de los huesos – a la cual se recubre con carbonato de apatita nanoescalar.
- Nanopartículas o nanoacarreadores poliméricos.
Ofrecen una gran flexibilidad en la adaptación de productos químicos, debido a su composición, tamaño, biodegradabilidad, morfología y propiedades de superficie.
Como resultado, sirven como excelentes portadores de fármacos, para una gama de aplicaciones en la detección, imagen y terapéutica. El patrón de liberación de fármacos puede incluir la biodegradación polimérica controlada o algún estímulo apropiado activación. Los mecanismos de activación o el estímulo para la liberación del fármaco puede ser pasivo (por ejemplo, un cambio de pH en un hidrogel, que conduce a hinchamiento) o activo, activadas externamente (por ejemplo, fotodegradación, mediante clivaje activado por luz de enlaces fotolábiles en un esqueleto polimérico). Por último, debe mencionarse que varios

polímeros hidrófilos, tales como polietilenglicol (PEG), quitosano y dextrano, se usan ampliamente como recubrimiento sobre otras nanopartículas para mejorar sus propiedades como la dispersabilidad, biodisponibilidad y eficacia de focalización.

- La biocompatibilidad natural y la biodegradabilidad de los biopolímeros, como las proteínas y los azúcares, los hacen extremadamente prometedores en aplicaciones de administración y liberación de fármacos. En este sentido, la proteína en las nanopartículas ha ganado cada vez más atención por su carácter anfifílico que promueve su interacción tanto con el agua, con fármacos insolubles y fluidos fisiológicos.⁶² Las nanopartículas pueden prepararse a partir de proteínas naturales a través de técnicas simples, como autoensamblaje espontáneo, emulsificación, coacervación inducida por sal, reticulación química, etc. Además, hay una amplia posibilidad de interacción mediante la disponibilidad de grupos funcionales como amino, carboxilo y tiol, facilita los enlaces químicos con fármacos, agentes de imagen, ligandos de bioafinidad, etc.

- Las proteínas que se han probado para la administración de fármacos, incluye albúmina, gelatina, caseína, ferritina, elastina, gliadina, etc. Entre ellas, la albúmina ha tenido una atención especial, ya que puede unirse naturalmente a varios fármacos y moléculas, así como su función como un transportador fisiológico.

Otra proteína atractiva es la gliadina, que tiene mucoadhesivo, debido a su tendencia a formar enlaces de hidrógeno y proporcionar otras interacciones con las superficies mucosas. Nanopartículas de gliadina pueden usarse para la administración oral y tópica de fármacos.

- Nanoacarreadores inorgánicos.

Las nanopartículas inorgánicas ofrecen la ventaja de ser muy estables y altamente resistentes a la degradación enzimática. Pueden prepararse en

tamaño muy pequeño (<20 nm) y pueden ser excretados por vía renal o fecal.¹ Además, sus propiedades electrónicas, ópticas y magnéticas intrínsecas se deben al control de su fase cristalina, tamaño, forma, composición y características de la superficie para hacerlas verdaderamente multifuncionales para la imagen y la terapia.¹ Sin embargo, la nanotoxicidad es una preocupación importante en los nanoacarreadores inorgánicos ya que contienen átomos de metales pesados (por ejemplo, Cd), lo que hace necesario la biocompatibilidad en la superficie de las nanopartículas.

TERAPIA GÉNICA BASADA EN NANOPARTICULAS

Introducción a la Terapia Génica

Es bien sabido que la mayoría de las enfermedades se originan por deficiencia o mal funcionamiento de los genes en el cuerpo. Nuestro sistema inmunológico, que es nuestra principal defensa contra materiales invasores y patógenos extraños, también se ve intrínsecamente controlada por vías genéticas específicas. Por lo tanto, la terapia génica, cuyo objetivo principal es tratar las enfermedades genéticas, se espera que repercuta en una amplia gama de cuestiones sanitarias que van desde enfermedades genéticamente adquiridas, al cáncer. Además, la capacidad de materiales genéticos para regular las vías de señalización de las células madre / progenitoras refuerzan su utilidad en la medicina. Además de tratar enfermedades, la terapia génica tiene aplicaciones potenciales en la orientación de los desórdenes sociales, la salud mental y de comportamiento, y en la ingeniería de tejidos.

La terapia es una estrategia que se utiliza para el tratamiento de enfermedades monogénicas, como la fibrosis quística, o como un enfoque anticanceroso mediante la administración de un supresor de tumores, genes como p53. Aquí, los principales materiales genéticos fueron ADN plasmídico, que eran ADN bicatenario circular con longitud en el rango de 3-7 pares de kilobases (kbp),

dentro del cual se incorporó el componente genético activo. Aunque diseños con virus (vectores virales) demostraron ser muy eficientes en terapia génica en varios estudios preclínicos tempranos, su aplicación humana estaba llena de riesgos debido a la mutagenicidad y la inmunogenicidad de los virus. Como resultado, el gen transportador "no viral" nanométrico sintético se exploró como una alternativa.

Actualmente, la definición se ha ampliado para incluir varios tipos de modalidades genéticamente inducidas dirigidas tanto al tratamiento (terapéutica) y prevención (profilaxis) de enfermedades. Es particularmente emocionante la estrategia de la terapia génica que interfiere en el ARN, dirigida a la focalización y el deterioro de la expresión postranscripcional de genes indeseables y vías de señalización para enfermedades.

El ARN, denominado ARN intermedio corto (siRNA) 21-25 pb, es el componente genético activo en la terapia con ARNi. Aquí también vectores no antivirales nanoparticulares se consideran seguros y eficientes. Otras formas "indirectas" de terapia génica incluyen (a) desencadenamiento genéticamente inducido de la "neurogénesis" vía para combatir diversas enfermedades neurodegenerativas, (b) Terapias antimicrobianas las nanopartículas metálicas como el oro, la plata y el platino, debidas a su alta energía superficial, son bien conocidos por su toxicidad hacia un huésped de microbios patógenos, tales como bacterias, hongos, virus, etc. El más popular entre los metales es la plata, donde los iones Ag + inhiben fuertemente el crecimiento microbiano mediante la supresión de genes microbianos, enzimas respiratorias y transporte de electrones componentes. Por ejemplo, la terapia antimicrobiana tópica la crema que contiene plata es una estrategia importante para tratar las heridas por quemadura debido a la capacidad de controlar la colonización y proliferación de patógenos nosocomiales multirresistentes (por ejemplo, *Pseudomonas aeruginosa*, estafilococos resistentes a la meticilina, los enterococos resistentes a la vancomicina). Como resultado, esta terapia antimicrobiana con plata promete reducir significativamente las infecciones por heridas por quemaduras,

que son la principal fuente de morbilidad y mortalidad (más del 50%) en pacientes con quemaduras. El uso de metales nanoparticulados, por ejemplo, Ag, para terapias antimicrobianas, en principio, puede producir una serie de efectos beneficiosos, como el efecto multinivel, capacidad antibacteriana para reducir las posibilidades de resistencia, eficacia contra organismos multirresistentes, y baja toxicidad sistémica. Además, su efecto antibacteriano se demostró la efectividad tanto para los pacientes Gram positivos como los Gramnegativos Bacterias.

Administración enteral

Vía oral

Para los compuestos de clase II del SCB la biodisponibilidad está limitada por la velocidad de disolución, y para los compuestos de clase IV (baja solubilidad, baja permeabilidad) se le adiciona algún mecanismo que reduce la absorción (por ejemplo la glicoproteína P). La rápida disolución de las nanopartículas ayuda a mejorar la absorción de ambas clases de compuestos, al permitir una mayor disponibilidad del PA en solución.

El incremento de la solubilidad que tiene lugar con la reducción del tamaño de partícula provoca mayores gradientes de concentración en las membranas, lo que lleva a una mayor penetración o permeación. Además, las partículas de tamaño nanométrico poseen una alta adhesividad a las membranas biológicas. Para aquellos compuestos cuya ventana de absorción es estrecha, el incremento en la velocidad de disolución y la alta adhesividad permiten una disponibilidad casi completa del PA disuelto en el sitio de absorción.

El aumento de la biodisponibilidad oral puede atribuirse entonces al incremento de la superficie disponible para la disolución, la mayor adhesividad de las nanopartículas a las membranas biológicas y el incremento en la solubilidad de saturación. Además se logra una reducción en la variabilidad de la absorción del PA con respecto a la presencia o no de alimentos en el tracto digestivo, y disminución de la variabilidad inter-individual.

La adhesividad de las NSs no sólo puede ser usada para mejorar la biodisponibilidad, sino que también puede ser una herramienta importante para la vectorización del fármaco hacia su sitio de acción, como por ejemplo los parásitos persistentes del tracto gastrointestinal.

Las nanopartículas de quitosano también han sido ampliamente estudiadas como vehículos para la administración oral de macromoléculas terapéuticas. En este particular, la administración oral de nanopartículas de quitosano cargadas con insulina a ratas diabéticas resultó en la aparición de una respuesta hipoglucémica en un período de 8 h posterior a la administración, la cual se prolongó hasta por 24 h la evidencia experimental de estos y otros estudios, es consistente con la hipótesis de que estos sistemas son capaces de adherirse firmemente y traspasar el epitelio intestinal, además de ceder el péptido en forma sostenida al torrente sanguíneo.

Administración parenteral

La administración parenteral de Pas insolubles puede requerir el empleo de NSs, al menos cuando las dosis a administrar no pueden disolverse en los volúmenes empleados para inyección (1 a 10 mL) o en infusión (100 mL por ejemplo). Las estrategias que se han empleado para mejorar la solubilidad están basadas en el uso de tensoactivos, mezclas de solventes o complejos de inclusión de ciclodextrinas.

Un aspecto interesante es que las NSs inyectadas exhiben una farmacocinética diferente comparada con una solución administrada por la misma vía, cuando presentan un tamaño por debajo de los 100 nm. Las partículas nanométricas que no se disuelven suficientemente rápido son secuestradas por las células del sistema fagocítico mononuclear (SFM) mediante mecanismos endocíticos. Se acumulan principalmente en las células de Kupffer del hígado, al igual que todas las partículas coloidales. Como efecto positivo, esta acumulación en el hígado permite conseguir niveles plasmáticos prolongados del PA. Los macrófagos actúan como depósito y el PA se libera de manera sostenida en la circulación

sistémica. Como posible efecto secundario, las altas concentraciones pueden causar efectos tóxicos localizados en el hígado.

Si el objetivo de la administración I.V. es el direccionamiento específico del PA hacia las células del SFM, la captación por parte de estas células mediante mecanismos endocíticos puede verse incrementada si se modifica la superficie de las mismas con tensoactivos o polímeros agregados adecuadamente durante el proceso de elaboración. Los sistemas coloidales portadores de Pas también han sido objeto de atención de las investigaciones en los últimos años debido a su habilidad de incorporar fármacos en sistemas como micropartículas, liposomas, partículas poliméricas, nanopartículas y así aprovechar este mecanismo de captación natural.

Aprovechar la habilidad de estas células del sistema inmunitario para acaparar todos objetos particulados, sobre todo fragmentos celulares, proteínas macromoleculares o los microorganismos que invaden el cuerpo, puede traer resultados terapéuticamente eficaces.

Oftálmicos

Sistemas oftálmicos de liberación controlada

Uno de los principales objetivos de la farmacoterapia ocular consiste en conseguir un sistema cómodo de administrar por el propio paciente, que acceda rápida y selectivamente al tejido del ojo dañado, sin afectar a las células sanas contiguas y con una concentración de principio activo eficaz durante un tiempo adecuado. Naturalmente, uno de los retos a tener en cuenta es aumentar el tiempo de contacto con la superficie ocular, consiguiendo una buena biodisponibilidad del fármaco. Las estrategias para conseguirlo, podrían englobarse en cuatro categorías:

- bioadhesivos
- insertos e implantes oculares
- lentes de contacto hidrófilas terapéuticas de porte prolongado

Sistemas dispersos: liposomas y nanopartículas

Sistemas bioadhesivos.—Son formulaciones que contienen polímeros, con propiedades especiales que les permite interactuar (mucoadhesión) con los mucoproteidos (derivados del ácido siálico) de la fase mucínica de la película lagrimal. De esta manera se consigue aumentar el tiempo de contacto del fármaco con la superficie ocular. Entre los polímeros bioadhesivos utilizados, figuran la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), la carboximetilcelulosa (CARMELOSA), el carboxipolimetileno (CARBÓMERO), etc.

Aunque pudiera parecer que un incremento de la mucoadhesión iría asociado a un aumento de la biodisponibilidad del fármaco, se ha comprobado que lo verdaderamente importante es la semejanza estructural de las cadenas poliméricas del vehículo con las cadenas de la mucina. En este aspecto, vuelve a aparecer con ventaja el HIALURONARO SÓDICO, con menor poder de bioadhesión que los derivados celulósicos pero que aumenta la biodisponibilidad de determinados principios activos en mayor grado que los derivados de la celulosa. A ello podemos añadir el hecho de que, al igual que ocurre con las glucoproteinas mucoides naturales de la lágrima, cuando se produce el parpadeo, las moléculas de hialuronato sódico se distribuyen de forma alineada en la dirección de las fuerzas de cizallamiento, ofreciendo mucha menor resistencia, hacen más fluidas las soluciones que lo contienen permaneciendo más tiempo sobre la superficie ocular y produciendo un efecto protector de las células del epitelio corneal. Además, incluso a concentraciones altas, producen menor visión borrosa que los polímeros de celulosa.

Los ojos se encuentran entre los órganos más accesibles en términos de ubicación anatómica, aunque la administración de fármacos por esta vía es particularmente problemática. El principal inconveniente es que las formas líquidas son removidas relativamente rápido de la superficie ocular por el flujo lagrimal y otros mecanismos de drenaje.

El aspecto aprovechable de las NSs es la alta bioadhesividad que exhiben las nanopartículas, pudiendo incluso constituir un sistema de liberación prolongada como se ha visto recientemente.

Como se recomienda que el tamaño de partícula para fármacos de administración en la superficie ocular no supere los 10 μm , las nanopartículas nuevamente se muestran como buenas candidatas para el desarrollo de medicamentos para esta vía. Las potenciales ventajas de los sistemas nanométricos de administración de medicamentos por vía ocular serían: (1) la posibilidad de la autoadministración del medicamento por el paciente; (2) no hay interferencia con la visión dado el tamaño de las partículas; (3) protección contra las enzimas metabólicas (como peptidasas y nucleasas); (4) posible captación del PA por las células corneales; (5) liberación prolongada del PA, lo que reduce la necesidad de repetidas instilaciones y/o inyecciones; y (6) direccionamiento hacia el tejido afectado, evitando los posibles efectos secundarios a las dosis empleadas.

Las NSs no han sido suficientemente empleadas para esta vía. Sin embargo, la elevada adhesividad de las NSs pueden dar lugar a una liberación prolongada.

Administración ocular

La eficacia de nanopartículas de quitosano para prolongar la administración de fármacos a la superficie del ojo ha sido firmemente demostrada. Esto se ha conseguido con CyA como fármaco modelo cuya administración se puede ver beneficiada de una liberación prolongada, toda vez que este fármaco se prescribe para el tratamiento del síndrome de ojo seco severo. Es interesante anotar que las nanopartículas de quitosano fueron capaces de proveer una administración selectiva y prolongada de CyA a la mucosa ocular sin comprometer tejidos internos y evitando la absorción sistémica. En estudios subsecuentes, utilizando quitosano marcado fluorescentemente fue posible demostrar que la adhesión de nanopartículas de quitosano a la córnea y conjuntiva persiste durante más de 24 h.

Radiomarcaje de nanopartículas poliméricas como adyuvantes para la vacunación oftálmica frente a la brucelosis

Los estudios de biodistribución de ^{99m}Tc -man-NP-HS tras la administración oftálmica han permitido demostrar su biodistribución en las mucosas y el tracto gastrointestinal, característica indispensable como sistema de liberación de antígenos a través de la mucosa ocular. Esto, junto con su elevada respuesta inmune, efectiva protección y no virulencia, convierte a estas nanopartículas en una vacuna ideal antibrucelosis.

La brucelosis es una de las zoonosis bacterianas más contagiosas del mundo y afecta tanto al ganado doméstico como a algunos animales salvajes. Se transmite al ser humano por contacto directo con el ganado infectado o por consumo de productos lácteos no higienizados, causando síntomas crónicos graves e invalidantes cuyo tratamiento es largo y costoso. En el ganado causa abortos e infertilidad y cuantiosas pérdidas económicas. Sólo los países no mediterráneos de la Unión Europea, Canadá, Estados Unidos, Japón, Australia y Nueva Zelanda han erradicado esta enfermedad de los rumiantes tras décadas de vacunación y costosas medidas de sacrificio de animales.

No existen vacunas humanas contra la brucelosis y las vacunas animales existentes, *Brucella melitensis* Rev 1 y *Brucella abortus* RB51, presentan grandes inconvenientes debido a que se basan en la bacteria viva atenuada, por lo que surge la necesidad del desarrollo de nuevas vacunas más seguras y eficaces.

Para superar dichos inconvenientes la tendencia actual se orienta hacia el empleo de vacunas subcelulares. Se ha demostrado que el extracto antigénico subcelular Hot Saline (HS) de *Brucella ovis* (*B. ovis*) presenta una elevada inmunogenicidad. Sin embargo, debido a la naturaleza no replicante del antígeno se requiere el empleo de adyuvantes adecuados, tales como nanopartículas poliméricas biodegradables y bioadhesivas que incrementen la respuesta inmune. Estas nanopartículas también permiten la administración de la vacuna

por vías alternativas a las parenterales, como son las vías mucosales, y dentro de estas la administración ocular se ha revelado como una de las vías más económicas para conseguir una mayor y más rápida biodisponibilidad de fármacos.

Las nanopartículas de metil vinil éter y anhídrido maléico (preparadas con Gantrez^R AN 119) cuando son utilizadas como adyuvantes mucosales incrementan la estabilidad del antígeno HS y lo protegen frente a la degradación, aumentan su biodisponibilidad por esta vía, imitan la vía de entrada del patógeno y favorecen la respuesta inmune. A su vez, la incorporación de manosamina sobre la superficie de las nanopartículas desarrolla interacciones específicas con receptores expresados en las células del sistema inmune aumentando la respuesta inmunitaria innata.

Una limitación sustancial de numerosos estudios previos es la dificultad de detectar la biodistribución de dichas formulaciones de nanopartículas tras su administración vía mucosas. El empleo de técnicas basadas en el uso de trazadores radioisotópicos permite realizar estudios de biodistribución *in vivo* y *ex vivo*. Debido a las adecuadas propiedades físicas del ^{99m}Tc ($T_{1/2} = 6.02$ h, emisor gamma puro de 140 keV) y a su gran disponibilidad mediante un generador de ⁹⁹Mo-^{99m}Tc lo convierten en el isótopo de elección para el radiomarcaje de las nanopartículas, lo cual permitirá ver la localización en los diferentes órganos del animal inoculado en tiempos de hasta 72 h tras la administración oftálmica.

Las nanopartículas se caracterizaron mediante la medida de su tamaño, el potencial Z y la morfología.

Numerosas publicaciones hablan de las propiedades de las nanopartículas poliméricas de Gantrez^R AN 119 como adyuvantes vacunales vía mucosas. Sin embargo, poco se conoce acerca de su comportamiento y biodistribución *in vivo*.

Durante años, en la búsqueda de fármacos para el tratamiento de enfermedades oculares mediante gotas, se ha intentado que dichos fármacos superen la

barrera del epitelio corneal penetrando así en la córnea y alcanzando los tejidos intraoculares y se ha buscado evitar en lo posible la absorción del fármaco y la penetración en el organismo mediante la circulación sistémica. Otro requisito a tener en cuenta ha sido evitar la pérdida del fármaco por medio de la lacrimación y aumentar el tiempo de residencia del fármaco en el tejido corneal para favorecer su absorción. En este caso, al tratarse de una vacuna antibrucelosis, interesa que el fármaco penetre también en el organismo para que se activen los tejidos linfoides, también presentes en la conjuntiva y en el sistema de drenaje lacrimal. Esto se refleja en los resultados obtenidos de los estudios isotópicos de biodistribución ex vivo mediante el recuento de órganos que mostraron que tanto a las 2 como a las 24 h la mayor parte de la radiactividad se acumulaba en la mucosa ocular y nasal y en el tracto gastrointestinal. Esto se debe a que las nanopartículas, que presentan gran capacidad de adhesión a las mucosas, una vez que entran al organismo por vía ocular se distribuyen también por el resto de las mucosas, como son la mucosa nasal y la mucosa del tracto gastrointestinal. A su vez, el hecho de que a las 24 h siga habiendo acumulación de las nanopartículas radiomarcadas en los mismos tejidos/órganos nos indica la alta bioadhesión que presentan estos adyuvantes con las mucosas, con lo que se produce un aumento del tiempo de residencia de la formulación en el organismo, lo que permite una mayor biodisponibilidad del antígeno y, por tanto, una mayor activación del sistema inmune. En su preparación las nanopartículas fueron además recubiertas con el ligando manosamina para favorecer las interacciones con receptores específicos del sistema inmune, mejorando así todavía más la respuesta inmunitaria.¹⁸

Cutáneos

Ketoconazol incluido en nanopartículas lipídicas sólidas contra *Candida albicans*

El ketoconazol es un fármaco antimicótico muy utilizado. A pesar de su amplio espectro como agente antifúngico, adolece de dos características que hacen difícil su utilización, es poco soluble en agua y además se degrada fácilmente.

Un sistema basado en nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) para ser empleado como sistema de liberación modificada de ketoconazol y así mejorar su actividad terapéutica. Las nanopartículas lipídicas fueron preparadas por el método de fusión-homogeneización y caracterizadas en tamaño, potencial Z, forma y actividad antifúngica. La formulación optimizada generó nanopartículas esféricas con un tamaño promedio de 82 ± 0.75 nm y un potencial Z de -14 ± 0.05 mV. El tamaño de partícula en suspensión incrementó ligeramente en el transcurso de un mes. Para garantizar la estabilidad del sistema, éstas fueron liofilizadas. También se ensayó la eficacia de la actividad antifúngica del sistema contra *Candida albicans*, los resultados sugieren que se mejora la actividad antifúngica del ketoconazol incluido en nanopartículas lipídicas en comparación con las formas farmacéuticas convencionales; este hecho permitirá incluir las nanopartículas con ketoconazol en aplicaciones tópicas, y de esta forma mejorar el tratamiento contra las micosis cutáneas.

A pesar de los grandes avances en el desarrollo de antimicrobianos, muchas enfermedades infecciosas, especialmente las infecciones intracelulares, siguen siendo difíciles de tratar. Una de las razones principales se debe a que muchos fármacos antimicrobianos se les dificulta atravesar las membranas celulares y por lo tanto tienen baja actividad dentro de las células. Para subsanar estos problemas, se han propuesto estrategias de liberación de fármacos antimicrobianos alterna.

Al incluir a los fármacos en nanoacarreadores pueden mejorarse significativamente la farmacocinética y el índice terapéutico, en contraste con las formulaciones que contienen sólo el fármaco libre. Entre los sistemas acarreadores que existen en la actualidad, las Nanopartículas Lipídicas Sólidas (SLN, por sus siglas en inglés) representan una manera viable para lograr dicha meta.

Las ventajas de la utilización de las nanopartículas lipídicas como nanoacarreadores incluyen: la utilización de lípidos fisiológicos en su formulación, evitan el uso de disolventes orgánicos en su preparación y la

posibilidad de ser utilizadas en un espectro amplio para la administración sobre la piel, por vía oral y por vía intravenosa, mediante los medicamentos tradicionales como son las pomadas, tabletas, cápsulas, suspensiones o soluciones inyectables. Las SLN protegen a los fármacos contra agentes externos como la luz y la humedad, presentan una mejor biodisponibilidad y pueden ser diseñadas para dar perfiles de liberación prolongada de sustancias activas poco solubles en agua, al incorporarlas en la matriz lipídica sólida.

La micosis es una de las principales enfermedades a nivel mundial y se estima que la padecen aproximadamente 40 millones de personas tanto en países desarrollados como no desarrollados. De los compuestos utilizados para tratar la micosis, los derivados azólicos son los preferidos, ya que son efectivos contra todas infecciones micóticas. En particular, el ketoconazol es de los más empleados, este fármaco es una base débil con una moderada liposolubilidad, un peso molecular de 532 g/mol y un bajo coeficiente de permeabilidad de 1.2×10^{-3} , lo que hace que no se mantengan concentraciones terapéuticas en la epidermis al emplear los sistemas convencionales de liberación de fármacos (cremas y lociones), esto hace que se requieran múltiples aplicaciones para el tratamiento y que en muchas ocasiones el paciente no termine el tratamiento. lo anterior hace que el ketoconazol sea un buen candidato para ser incorporado en un sistema de liberación de fármaco como lo son las SLN y de esta forma mejorar su desempeño como agente antimicótico.

Formular y evaluar la actividad antifúngica del ketoconazol incluido en SLN para la liberación por vía tópica del ketoconazol, en comparación con las prescritas en formulaciones convencionales. Para mantener una concentración alta y permitir una frecuencia baja de dosificación y cantidades bajas, el ketoconazol fue incluido en un sistema lipídico nanoparticulado.

Se sabe que por lo general el tamaño de partícula depende de muchos factores tales como la temperatura de proceso, velocidad de homogeneización, cantidad de estabilizante y contenido de fármaco.

Al incluir un fármaco en acarreadores nanométricos se mejora su actividad terapéutica, esto es resultado del gran área superficial que se crea en estos sistemas, por lo tanto hacen que las moléculas se encuentren libres para ejercer su actividad terapéutica.

Gran potencial del sistema nanoparticulado lipídico para funcionar como un sistema de liberación tópica modificada del ketoconazol y de esta manera se podría mejorar la terapia contra las micosis cutáneas.²¹

Via dérmica

Las NSs muestran aumentada permeación y bioadhesividad. Sin embargo durante mucho tiempo no se centró la atención en aprovechar estas propiedades para la aplicación sobre mucosa y por vía transdérmica. Esto cambio cuando se formularon NSs de los antioxidantes rutina, hesperidina y apigenina, con el fin de emplearlas en productos cosméticos anti-edad. Los nanocristales simplemente son mezclados en la fase acuosa de una crema o loción de tipo o/w. La formulación con nanocristales de rutina fue comparada *in vivo* con una crema que contenía un derivado hidrosoluble del mismo PA. La concentración del PA en la fase acuosa de la NS fue de 1/500, y mostró un mayor factor de protección solar.

El mecanismo de acción subyacente consiste en que el aumento de la solubilidad del PA en la fase acuosa de la NS incrementa el gradiente de concentración entre la formulación y la piel. Además cuenta con la ventaja de estar formulada con la propia molécula de rutina que es más lipofílica. Al ser mayor la penetración de las moléculas del activo liposoluble, existe un rápido recambio del PA en la fase acuosa de la formulación que proviene de las nanopartículas, de esta forma actúan como un sistema depot situado en la fase dispersante.

El efecto adhesivo de las partículas de tamaño nanométrico puede ser mejorado mediante el uso de polímeros cargados positivamente como estabilizadores. La

carga opuesta aumenta la afinidad del sistema así estabilizado por la superficie celular, cargada negativamente.

Vía pulmonar

Esta es una vía interesante de administración debido a su gran área superficial (entre 75 y 140 m²), al escaso espesor de la barrera aire-sangre de los alvéolos (menos de 1µm), a su alta perfusión sanguínea y a la posibilidad de evitar el efecto del primer paso hepático. Dadas estas características, parece posible que la administración pulmonar de medicamentos pueda mejorar la absorción y la biodisponibilidad de PAs.

Las NSs se pueden emplear como alternativa a los polvos secos para inhalación, simplemente mediante la nebulización de las mismas.

Los nebulizadores generan un aerosol con un tamaño de gota adecuado para la administración pulmonar que oscila entre 1 y 5 µm, suficiente para contener cantidades adecuadas de nanopartículas. Los polvos secos de tamaño nanométricos presentan dificultades para ser inhalados, dado que son altamente adhesivos (con tendencia a la aglomeración) y las partículas entre 0.5 y 1 µm pueden ser exhaladas.

Cuando las gotas de aerosol se depositan en los pulmones, las nanopartículas se extienden de forma uniforme en la superficie del tejido, especialmente cuando las formulaciones se estabilizan con tensoactivos que permiten lograr una buena extensibilidad.

Administración nasal

Las nanopartículas de quitosano han demostrado mejorar el transporte y biodisponibilidad de macromoléculas terapéuticas y antigénicas a través de la mucosa nasal. Los estudios para mejorar la eficacia de nanopartículas para la liberación de macromoléculas por vía nasal se han centrado en dos tipos de macromoléculas: insulina y antígeno de toxoide tetánico. La administración de nanopartículas de quitosano cargadas con insulina por vía nasal en conejo

conducen a una disminución significativa de los niveles de glucemia (~40%), con respecto a una solución de insulina y quitosano. En otros estudios se ha abordado la respuesta inmune posterior a la administración de nanopartículas cargadas con toxoide tetánico, empleado como un antígeno modelo. Paralelamente, se ha demostrado el potencial de las nanopartículas de quitosano para la administración de plásmidos por vía nasal, con resultados prometedores.

Los mecanismos en virtud de los cuales las nanopartículas de quitosano mejoran el transporte intranasal de macromoléculas terapéuticas, se entienden como una consecuencia de la facilidad de interacción de dichas nanopartículas con el epitelio nasal.

14.0 RECOMENDACIONES

Teniendo en cuenta el desarrollo disruptivo de las nanotecnologías y que la comercialización de productos nanométricos o con componentes nanométricos han empezado y se amplificará en los próximos años, consideramos fundamental continuar vigilando atentamente la evolución de estas nuevas tecnologías y así lograr investigar y generar conocimiento actualizado en referencia a los posibles y reales impactos que resulten de la aplicación de dichas tecnologías.¹¹

Desde la universidad se debe establecer una terminología y una nomenclatura científica común, con el fin de determinar procedimientos y normas adecuadas a su aplicación, y continuar el desarrollo de la investigación y la difusión de sus resultados.¹¹

Teniendo en cuenta los niveles de interacción de las aplicaciones nanotecnológicas, se recomienda la creación de programas de investigación transdisciplinaria sobre los impactos de las nuevas tecnologías y sobre la

evaluación del riesgo asociado a las nanotecnologías que tengan en cuenta sus dimensiones éticas y sociales.¹¹

El principio precautorio juega un papel importante en el proceso de creación y de preparación de medicamentos y de terapias con componentes nanotecnológicos. Esta característica incita a proseguir con la investigación y a documentar los efectos potencialmente positivos y negativos de las aplicaciones nanotecnológicas en el campo de los cuidados de salud para poder evaluar mejor las consecuencias en las personas y en el funcionamiento del sistema de salud en general.¹¹

Orientados por el principio de precaución y desde una perspectiva de desarrollo sostenible, se recomienda que se tengan en cuenta todas las fases del ciclo de vida de un producto que contenga nanotecnología o elementos nanométricos en todas las investigaciones y políticas medioambientales, y así evitar cualquier consecuencia nociva de esta innovación tecnológica en la salud y en el ecosistema.¹¹

Se resalta la importancia de multiplicar la investigación sobre las posibles consecuencias de las nanotecnologías para determinar las sustancias que podrían ser nocivas para el medio ambiente. Esta recomendación precisa el compromiso de investigadores, industriales y organismos públicos. Se hace necesario que el gobierno intervenga por medio de políticas para que ministerios desde la administración en el campo de la salud y del medio ambiente establezcan mecanismos necesarios para la evaluación de la toxicidad de los procesos y de los productos que contengan nanotecnologías como requisito anterior a la autorización de su comercialización.¹¹

Se recomienda poner a consideración y determinar la implementación de medidas de prevención adecuadas y relacionadas con el conocimiento del ciclo de vida de los productos que portan las nanotecnologías, y cómo estos contribuirán a proteger la salud y la seguridad.¹¹

La ausencia evidente de información y educación con respecto a lo que es y las características de las aplicaciones nanotecnológicas, nos lleva a preguntarnos lo siguiente: ¿Cómo tomar decisiones informadas, como legislador, investigador, empresario, trabajador o ciudadano si no existe una comprensión común de lo que son las nanotecnologías?, la recomendación entonces va dirigida a solucionar dicho cuestionamiento, informando y difundiendo por medio de una construcción social los conocimientos necesarios para afrontar esta nueva revolución tecnológica. Los productos con aplicaciones de nanotecnología que se encuentran en el mercado deben tener una regulación inmediata y confiable.¹¹

Es importante tomar medidas de precaución que eviten la acumulación de riesgos y de daños al ser humano a la hora de acceder a un artículo.¹¹

La regulación sobre los productos cosméticos debe ser inmediata y el principio de precaución se debe tener en cuenta frente a estos por parte de los usuarios, es importante expandir la comunicación de los efectos negativos ocasionados por nanopartículas de óxido de zinc, entre otras.¹¹

15.0 ANÁLISIS

El desarrollo de la nanomedicina y sus impactos en las comunidades marginadas debe entenderse en un contexto social y político más amplio. El punto fundamental – que no es particular de la nanotecnología – es que las nuevas tecnologías no han proporcionado soluciones a los complejos problemas que tienen sus raíces en la pobreza y las desigualdades sociales. Los medicamentos habilitados nanológicamente y las tecnologías de mejoramiento del desempeño humano amenazan desviar, de las necesidades fundamentales de salud, los escasos fondos destinados a la investigación médica y su desarrollo.¹⁹

El énfasis en intervenciones médicas de alta tecnología amenaza desviar la atención y los recursos de las aproximaciones no médicas que intentan impulsar el desarrollo humano. Las intervenciones básicas que conducen a mejoras en

salubridad, vivienda, nutrición, educación y en el acceso a agua limpia – por ejemplo – pueden, en última instancia, conducir a mucho mayores avances en la salud humana que las tecnologías médicas de punta.¹⁹

Hoy, la vasta mayoría de la investigación médica y su desarrollo está determinada por la ganancia, no por las necesidades humanas.¹⁹

El potencial de la nanotecnología para responder a las principales necesidades de salud en el mundo en desarrollo, es muy probable que los tratamientos de patente, de alta tecnología, serán muy inadecuados, inaccesibles e incosteables para las comunidades marginadas del Norte y del Sur.¹⁹

Hay muchas cuestiones fundamentales sin respuesta, en relación a los impactos ambientales y de salud de los materiales nanoescalares que ya se usan en el desarrollo de medicamentos nanológicos.¹⁹

En los años por venir habrá un mayor énfasis en la medicina personalizada. La convergencia tecnológica hará posible, en teoría, refinar la estructura, la función y las capacidades de los cuerpos y los cerebros humanos. La línea entre mejoramiento/refinamiento y terapia terminará por desaparecer, y sesgará la percepción de la sociedad de lo que se considera “normal”.¹⁹

La aparición en escena de la tecnología nanoescalar es un evento considerablemente significativo que nos brinda un potencial sin precedentes para controlar, manipular y moldear toda la materia viva e inerte para obtener un resultado deseado. De esta forma la nanotecnología se estructura en el mundo actual como la llave que abre las puertas a un nuevo universo donde convergen elementos vitales en todos los campos del saber, generando espacios para aprovechar e interrelacionar tecnologías buscando incidir, afectar y beneficiar los procesos vitales humanos, entre ellos, la salud, la vida, la muerte y la enfermedad.¹¹

El análisis del estado actual y de las tendencias mundiales en cuanto a los desarrollos tecnológicos nanoescalares, dejan ver que incluso ante un ambiente

financiero tan inestable como el actual, la investigación nanoescalar obtiene una concentración alta de inversiones, innovación y entusiasmo, lo que resulta en una vertiginosa conversión de las tecnologías nanométricas en tecnologías “viables” para la incursión en el mercado. De esta forma la industria de la nanotecnología plantea un nuevo renacimiento económico, cultural, social y medioambiental que se estructura de acuerdo a las ventajas que ésta ofrece, en cuanto a la masificación y mejoramiento de los materiales, el desarrollo sostenible y la ganancia en los diferentes ámbitos. Las expectativas que se generan en torno a la nanotecnología evidentemente son realmente prometedoras, y cobijan beneficios inconmensurables para el bienestar y la vida de las personas, pero paralelamente y en un ámbito sumamente relegado se encuentran los riesgos e incertidumbres que se generan como consecuencia de la aplicación de dichas tecnologías, es evidente que hace falta bastante información para garantizar un uso seguro de la nanotecnología, y ello requiere que se vincule a los procesos de formación profesional en todas las áreas de la nanotecnología como un componente esencial, que vincule a la emergente nanotecnología, procesos críticos cualificados desde la universidad.¹¹

Además la implementación de la nanotecnología en la vida cotidiana humana, requiere incluir dentro de los mecanismos de acople la necesidad urgente de generar mecanismos de cualificación, organización y participación que vinculen a la comunidad en la construcción de procesos sociales de transformación, y un componente técnico científico que facilite el diseño de modelos de desarrollo e incorporación de las tecnologías nanoescalares según las condiciones, los riesgos, los beneficios y las necesidades de cada persona o grupo social.¹¹

El desarrollo de la nanotecnología, especialmente de sus aplicaciones biomédicas y sus impactos en las comunidades marginadas debe entenderse en un contexto social y político más amplio. El punto fundamental es que las nuevas tecnologías no han proporcionado soluciones a los complejos problemas que tienen sus raíces en la pobreza y las desigualdades sociales. Los medicamentos habilitados nanológicamente y las tecnologías de mejoramiento del desempeño

humano amenazan desviar, de las necesidades fundamentales de salud, los escasos fondos destinados a la investigación médica y su desarrollo. Es más, el énfasis en intervenciones médicas de alta tecnología amenaza desviar la atención y los recursos de las aproximaciones no médicas que intentar impulsar el desarrollo humano, como intervenciones básicas que conducen a mejoras en salubridad, vivienda, nutrición, educación y empleo pueden, en última instancia, conducir a mucho mayores avances en la salud humana que las aplicaciones nanoescalares biomédicas de punta.¹¹

El énfasis en el mejoramiento del desempeño humano, no sólo amenaza redirigir los escasos fondos de investigación y desarrollo en salud, desviándolos de las necesidades esenciales de salud de la gente marginada, sino que a fin de cuentas creará una “brecha de capacidades”. Al igual que la brecha digital, la brecha de capacidades ensanchará el abismo entre el Norte y el Sur, entre ricos y pobres. Es probable que en el contexto social y político que prevalece, la introducción de penetrantes tecnologías del refinamiento humano provoque la marginación de más grupos de personas.¹¹

Hay muchas cuestiones fundamentales sin respuesta, en relación a los impactos ambientales y de salud de los materiales nanoescalares que ya se usan en el desarrollo de medicamentos de innovación. Aunque muchos promotores prometen que la nanotecnología nos brindará revolucionarios avances en la salud, mejorando nuestra calidad de vida y hasta prolongando nuestra existencia, es también posible que algunas de sus aplicaciones introduzcan nuevos riesgos a la salud humana. Es prácticamente desconocida la toxicología de los materiales nanoscópicos diseñados, y de los estudios toxicológicos que se condujeron con la misma sustancia formulada en partículas de mayor escala no pueden extrapolarse datos. Los recientes estudios toxicológicos sobre los impactos ambientales y de salud de las nanopartículas fabricadas indican que hay razones para preocuparse. Y, pese al hecho de que algunos productos nanoescalares ya se comercializan (incluidos algunos medicamentos nanológicos), ningún gobierno del mundo ha desarrollado regulaciones que

respondan a los aspectos de seguridad que implican los materiales nanométricos.¹¹

16.0 CONCLUSIONES

La nanotecnología farmacéutica tiene un papel sumamente importante en el diseño de transportadores para la orientación de sistemas de suministro de fármacos, el uso de nanopartículas farmacéuticas orienta, protege, vectoriza, direcciona, suministra de forma selectiva, segura y eficaz a fármacos para que logren ejercer su efecto terapéutico en el sitio deseado reduciendo así efectos adversos, dosis suministrada, número de dosis, así como lograr una liberación sostenida y prolongada del fármaco en la diana terapéutica.

Las tecnologías nanoescalares emergentes requieren que la sociedad emprenda una evaluación científica, socioeconómica, con el fin de que los gobiernos tomen decisiones informadas acerca de sus riesgos, beneficios y valor esencial.

Las tecnologías nanoescalares son concepciones inimaginables hechas realidad hoy en día, aunque para la mayoría de las personas todavía pasan desapercibidas.

Para poder aprovechar las ventajas de las nanotecnologías, se debe efectuar una “adecuada” implementación que le permita a estas novedosas tecnologías acoplarse a las necesidades reales de los modelos sociales de desarrollo, además de generar medios de conectividad, articulación y sinergia entre proponentes, proveedores y usuarios, partiendo de las necesidades existentes del usuario, para acoplar la tecnología de tal manera que ayude a resolver estas necesidades y no genere aspectos desfavorables.

17.0 BIBLIOGRAFÍA:

1. Nanotecnología aplicada en la industria farmacéutica. Saber cómo., Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI). Nro. 71 – Diciembre 2008. <https://www.inti.gob.ar/sabercomo/sc71/inti5.php>
2. Booker, R.; D. Boysen, E. (2005). *Nanotechnology for dummies*. 3° Edition. Wiley Publishing, Inc. Chemistry of Materials. (1980). Revista *The American Chemical Society*. New York.
3. Drexler, K. E. (2002). *Molecular machinery, manufacturing, and computing*. 5° Edition. New York: John Wiley & Sons, Inc.
4. Feynman, R. (1959). *Quantum computing, nanotechnology, as in molecular machines*. 2° Edition. By A Chen.
5. Rejeski, D. (2009). *Nanotechnology and consumer products*. 3° Edition. 4330 East West Highway Bethesda, M.
6. Shriver, E. A. (2005). *Química Inorgánica*. Bookman. 4° Edition. Kotz & Treichel.
7. Radulovic SCM, Wilson D, Durham S. Sublingual immunotherapy for allergic rhinitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; CD002893.
8. Fonseca DE KJ. Use of CpG oligonucleotides in treatment of asthma and allergic disease. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009; 61: 256-262.
9. Sheikh NA, al-Shamisi M, Morrow WJ. Delivery systems for molecular vaccination. *Curr Opin Mol Ther* 2000; 2: 37-54.
10. Clements CJ, Griffiths E. The global impact of vaccines containing aluminium adjuvants. *Vaccine* 2002; 20 (Suppl. 3): S24-S33
11. Francis MJ, Fry CM, Rowlands DJ, Bittle JL, Houghten RA, Lerner RA et al. Immune response to uncoupled peptides of foot-and-mouth disease virus. *Immunology* 1987; 61: 1-6.
12. Kwissa M, Lindblad EB, Schirmbeck R, Reimann J. Codelivery of a DNA vaccine and a protein vaccine with aluminum phosphate stimulates a potent and multivalent immune response. *J Mol Med (Berl)* 2003; 81: 502-510.

13. Schijns V E. Immunological concepts of vaccine adjuvant activity. *Curr Opin Immunol* 2000; 12: 456-63.
14. O'Hagan DT, Valiante NM. Recent advances in the discovery and delivery of vaccine adjuvants. *Nat Rev Drug Discov* 2003; 2: 727-735.
15. Kersten G, Hirschberg H. Antigen delivery systems. *Expert Rev Vaccines* 2004; 3: 453-462.
16. Calderon MA, Penagos M, Sheikh A, Canonica GW, Durham S. Sublingual immunotherapy for treating allergic conjunctivitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; CD007685.
17. M. Ferrer, M.L. Sanz, G. Gastaminza, V. del Pozo, J. de Souza, J.M. Irache; Nuevas formas farmacéuticas para el tratamiento de enfermedades alérgicas (New pharmaceutical dosage forms for allergy treatment); *An. Sist. Sanit. Navar.* 2012, Vol. 35, Nº 1, enero-abril.
18. *Treatise on Pharmaceutical Medicine.* Hernández Herrero Gonzalo, et al. Capítulo 10 Formas farmacéuticas innovadoras y formas de liberación sostenida. Editorial médica Panamericana. Pp. 135-140.
19. *Los retos de la Nanotecnología Farmacéutica.* Dr. Carlos Tomás Quirino-Barreda. Vol. 7, No. 12, enero-junio, 2014. *Mundo Nano.*
20. Aqel A, El-Nour KMMA, Ammar RAA, Al-Warthan A. *Carbon nanotubes, science and technology part (I) structure, synthesis and characterization.* *Arabian J Chem.* 2012; 5(1): 1-23.
21. *Stimuli-sensitive nanoparticles for an efficient drug delivery to targeted organs and tissues.* Sáez-Fernández E. Martínez-Soler GI, Pérez-Artacho B, Ruíz MA, Arias JL. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia, Campus Universitario de Cartuja. *ARS Pharmaceutica* ISSN: 0004-2927.
22. Foldvari M, Bagonluri M. *Carbon nanotubes as functional excipients for nanomedicines: I. pharmaceutical properties.* *Nanomed Nanotech Biol Med.* 2008; 4: 173-182.

23. Moddaresi M, Brown MB, Zhao Y, Tamburic S, Jones SA. The role of vehicle nanoparticle interactions in topical drug delivery. *Intern J Pharmac.* 2010; 400 (1-2): 176-182.
24. Bai D, Xia X, Yow CMN, Chu ESM, Xu C. Hypocrellin B-encapsulated nanoparticle-mediated rev-caspase-3 gene transfection and photodynamic therapy on tumor cells. *Europ J Pharmacol.* 2011; 650 (2-3, 15); 496-500.
25. Nanotecnología Farmacéutica. Villafuerte-Robles Leopoldo. Razón y palabra: primera revista digital en América Latina especializada en tópicos de comunicación ISSN 1605-4806.
26. Calestous Juma y Lee Yee-Cheong, "*Innovation: Applying Knowledge in Development*", UN Millennium Project Task Force on Science, Technology, and Innovation, 2005, pp. 69 ff. En la red electrónica: http://bcsia.ksg.harvard.edu/BCSIA_content/documents/TFAdvance2.pdf.
27. NanoMarkets, White Paper: *Nano-Enabled Drug Delivery Systems Market*, diciembre de 2004, p. 6-7.
28. Tabata, Y. (2005). *Nanomaterials of drug delivery systems for tissue regeneration*. Bock. 2° Edition. S. A.
29. Atkins F M. (2003). *Methods in Molecular Biolog.* Bock. 4° Edition. S. A.
30. Whitesides, G. M. (2003). *The right size in nanobiotechnology*. 1° Edition. Cambridge: Department of Chemistry and Chemical Biology, Harvard University.
31. (2001). *Nature Biotechnology*. 1° Edition. Cambridge: Department of Chemistry and Chemical Biology, Harvard University.
32. Yong, C. (2006). *High-density molecular electronic memory*. 1° Edition. By S Patil.
33. Organización Mundial de la Salud (OMS), *Public Health, Innovation and Intellectual Property Rights*, Informe de la comisión de derechos de propiedad intelectual, [Commission on Intellectual Property Rights, Innovation and Public Health], 2006.
<http://www.who.int/intellectualproperty/documents/thereport/CIPIHReport23032006.pdf>.

34. Lynn Yoffee, "Nanomedicine and Nano Device Pipeline Surges 68%", NanoBiotech News, 4 de enero, 2006.
35. Informe 2006 sobre *Nanomedicina, Dispositivos y Diagnóstico [2006 Nanomedicine, Device and Diagnostic Report]*, del editor de NanoBiotech News, 2006, p. 4.
36. Douglas W. Jamison, presidente de Harris & Harris Group, Inc. Citado en el informe 2006 sobre *Nanomedicina, Dispositivos y Diagnóstico [2006 Nanomedicine, Device and Diagnostic Report]*, del editor de NanoBiotech News, 2006, p. 2.
37. Bette Hileman, "Regulatory Trends", Chemical & Engineering News, 19 de junio, 2006, p. 95.
38. *Las nanopartículas como portadores de fármacos: características y perspectivas (Nanoparticles as drug carriers: characteristics and perspectives)*. Revista CENIC Ciencias Biológicas, Vol. 43, No. 3, septiembre-diciembre, 2012. Reinier Oropesa-Núñez, Ulises J. Jáuregui-Haza.
39. Kreuter J, Ramge P, Petrov V, Hamm S, Gelperina SE, Engelhardt B, et al. Direct evidence of polysorbate-80-coated poly(butylcyanoacrylate) nanoparticles deliver drugs to the CNS via specific mechanisms requiring prior binding of drug to the nanoparticles. *Pharm Res.* 2003; 20: 409-416.
40. Grislain L, Couvreur P, Lenaerts V, Roland M, Deprez-Decampeneere D, Speiser P. Pharmacokinetics and distribution of a biodegradable drug-carrier. *Intern J Pharm.* 1983; 15: 335-345.
41. Bawarski N, Chidlowsky E, Bharali DJ, Mousa SA. Emerging nanopharmaceuticals. *Nanomed Nanotech Biol Med.* 2008; 4:273-282.
42. Goldberg M, Langer R, Jia X. Nanostructured materials for applications in drug delivery and tissue engineering. *J Biomat Sci.* 2007; 18: 241-68.
43. Moghimi SM, Hunter AC, Murray JC. Long-circulating and target-specific nanoparticles: theory to practice. *Pharm Rev.* 2001; 53: 283-318.
44. Lamprecht A, Ubrich N, Yamamoto H, Schafer U, Takeuchi H, Maincent P, et al. Biodegradable nanoparticles for targeted drug delivery in treatment

- of inflammatory bowel disease. *J Pharm ExperTherap.* 2001; 299: 775-781.
45. Villafuerte R., Leopoldo; García F. Beatriz; Garzón S., María de Lourdes; Hernández L., Alejandra; Vázquez R., María Luisa. *Nanopartículas lipídicas sólidas. Solid lipid nanoparticles.* *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, vol. 39, núm. 1, enero-marzo, 2008, pp. 38-52. Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C., D.F., México.
46. Jores K. Mehnert W., Bunjes H., Drechsler M., Mäder K. 2003. From solid lipid nanoparticles (SLN) to nanospoons. Visions and reality of colloidal lipid dispersions. *Controlled release Society, 30th Annual Meeting proceedings.*
47. Jores K., Mehnert W., Bunjes H., Drechsler M., Mäder K. 2004. Investigations on structure of solid lipid nanoparticles (SLN) and oil-loaded solid lipid nanoparticles by photon correlation spectroscopy, field-flow fractionation and transmission electron microscopy. *Journal of Controlled Release*, 95: 217-227.
48. Müller R. H., Radtke M., Wissing S. A. 2002. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC): the new generation of lipid nanoparticles with solid matrix. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1: S131-S155.
49. Villalobos-Hernández J. R., Müller-Goymann C. C. 2006. Physical stability, centrifugation tests, and entrapment efficiency studies of carnauba wax-decyl oleate nanoparticles used for the dispersion of inorganic sunscreens in aqueous media. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 63(2): 115-127.
50. Hitzman C. J., Elmquist W. F., Wiedmann T. S. 2006. Development of a Respirable, Sustained Release Microcarrier for 5-Fluorouracil II: In Vitro and In Vivo Optimization of Lipid Coated Nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 95(5): 1127-1143.
51. Gessner A., Olbrich C., Schröder W., Kayser O., Müller R. H. 2001. The role of plasma proteins in brain targeting: species dependent protein

- adsorption patterns on brain-specific lipid drug conjugate (LDC) nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 214: 87-91.
52. Weyhers H., Lück M., Mehnert W., Souto E. B., Müller R. H. 2005. Surface Modified Solid Lipid Nanoparticles (SLN) Analysis of Plasma Protein Adsorption Patterns by two-dimensional Polyacrylamide Gel Electrophoresis (2-D PAGE) *International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences*, 1(2): 196-201.
53. Olbrich C., Kayser O., Müller R. H. 2002. Enzymatic Degradation of Dynasan 114 SLN – Effect of Surfactants and Particle Size. *Journal of Nanoparticle Research*, 4 (1-2): 121-129.
54. Heurtault B., Saulnier P., Pech B., Proust J. E., Benoit J. P. 2003. Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. *Biomaterials*, 24(23): 4283-4300.
55. Bunjes H., Koch M. H. J., Westesen K. 2003. Influence of emulsifiers on the crystallization of solid lipid nanoparticles. *Journal Pharmaceutical Sciences*, 92 (7): 1509-1520.
56. Radtke M., Souto E. B., Müller R. H. 2005. Nanostructured lipid carriers: a novel generation of solid lipid drug carriers. *Pharmaceutical Technology Europe*, 17 (4): 45-50.
57. Pacific Nanotechnology. 2007. Atomic Force Microscopy for Nanoparticles. <http://www.pacificnanotech.com/nanoparticles.html>.
58. Cid Cárcamo E. Cinética de disolución de Medicamentos. 1ª Ed. Washington DC: Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos (OEA), Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico; 1981.
59. Higuchi WI, Swarbrick J, Ho NFH, Simonelli AP, Martin A. Fenómenos de las partículas y dispersiones groseras. En: Remington Farmacia. Gennaro AR, editor. 17ª Edición. Tomo I. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1992. p. 423-60.

60. Abdou HM, Hanna S, Muhammad N. Disolución. En: Remington Farmacia. Gennaro AR, editor. 20^a Edición. Tomo I. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2003. p. 764-78.
61. Gao L, Zhang D, Chen M. Drug nanocrystals for the formulation of poorly soluble drugs and its application as a potential drug delivery system. *J Nanopart Res.* 2008; 10:845-62.
62. Müller RH, Pardeike J, Hommoss A. Nanoparticles in therapeutics: drug nanocrystals and lipid nanoparticles. Potsdam, Alemania: NanoTrends; 2006.
63. Rabinow BE. Nanosuspensions in drug delivery. *Nat Rev Drug Discov.* 2004; 3:785-96.
64. Amidon GL, Lennérnas H, Shah VP, Crison JR. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm Res.* 1995; 12(3):413-20.
65. Chen H, Khemtong C, Yang X, Chang X, Gao J. Nanonization strategies for poorly water-soluble drugs. *Drug Discov Today.* 2011; 16(7-8):354-60.
66. Chingunpituk J. Nanosuspension technology for drug delivery. *Walailak J Sci & Tech.* 2007; 4(2):139-53.
67. Keck CM, Müller RH. Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenization. *Eur J Pharm Biopharm.* 2006; 62:3-16.
68. Chen J-F, Zou M-Y, Shao L, Wang Y-Y, Yun J, Chew NYK, et al. Feasibility of preparing nanodrugs by high-gravity reactive precipitation. *Int J Pharm.* 2004; 269(1):267-74.
69. Mou D, Chen H, Wan J, Xu H, Yang X. Potent dried drug nanosuspensions for oral bioavailability enhancement of poorly soluble drugs with pH-dependent solubility. *Int J Pharm.* 2011; 413:237-44.
70. Xu Y, Liu X, Lian R, Zheng S, Yin Z, Lu Y, Wu W. Enhanced dissolution and oral bioavailability of aripiprazole nanosuspensions prepared by nanoprecipitation/homogenization based on acid–base neutralization. *Int J Pharm.* 2012; 438:287-95.

71. Trotta M, Gallarate M, Pattarino F, Morel S. Emulsions containing partially water-miscible solvents for the preparation of drug nanosuspensions. *J Con Rel.* 2001; 76:119-28.
72. Trotta M, Gallarate M, Carlotti ME, Morel S. Preparation of griseofulvin nanoparticles from water-dilutable microemulsions. *Int J Pharm.* 2003; 254:235-42.
73. Moribe K, Limwikrant W, Higashi K, Yamamoto K. Structural evaluation of probucol nanoparticles in water by atomic force microscopy. *Int J Pharm.* 2012; 427:365-71.
74. Wutikhun T, Ketchart O, Treetong A, Jaidee B, Warin C, Supaka N. Measurement and compare particle size determined by DLS, AFM and SEM. *J Microsc Soc Thai.* 2012; 5(1-2):38-41.
75. Zuo B, Sun Y, Li H, Liu X, Zhai Y, Sun J, et al. Preparation and in vitro/in vivo evaluation of fenofibrate nanocrystals. *Int J Pharm.* 2013; 455:267-75.
76. Du L, Li G, Jin Y, Wang L, Xu Q, Dong J. Riboflavin laurate nanosuspensions as an intramuscular injection for long-term riboflavin supplementation. *Int J Pharm.* 2013; 450:338-44.
77. Ali R, Jain GK, Iqbal Z, Talegaonkar S, Pandit P, Sule S, et al. Development and clinical trial of nano-atropine sulfate dry powder inhaler as a novel organophosphorous poisoning antidote. *Nanomed: Nanotechnol, Biol Med.* 2009; 5:55-63.
78. F.M. Goycoolea, C. Remuñán-López, M.J. Alonso, Nanopartículas a base de polisacáridos: quitosano, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela. Laboratorio de Biopolímeros. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Hermosillo, México.
79. Higuera-Ciapara, I., Toledo-Guillén, A.R. & Goycoolea F.M. (2007) Tendencias en propiedad intelectual y orientación de mercado para la quitina y quitosano. En: Argüelles-Monal W M, Campana S and Mada A, Proceedings of the IV Iberoamerican Chitin Symposium. *Iberoamerican Chitin Society*, Natal, Brasil.

80. Orive, G., Carcaboso, A.M., Hernández, R.M., Gascón, A.R. & Pedraz J.L. (2005) Biocompatibility evaluation of different alginates and alginate-based microcapsules. *Biomacromolecules*. 6:927-931.
81. Illum, L., Jabbal-Gill, I., Hinchcliffe, M., Fisher, A. N. & Davis, S.S. (2001). *Adv. Drug Deliv. Rev.* 51: 81-96.
82. Singla, A.K. & Chawla, M. (2001) Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects - an update. *J. Pharm. Pharmacol.* 53(8): 1047-1067.
83. Pangburn, S.H., Trescony, P.V. & Heller, J. (1982) Lysozyme degradation of partially deacetylated chitin, its films and hydrogels. *Biomaterials*. 3: 105-108.
84. Hirano, S., Seino, H., Akiyama, Y. & Nonaka, I. (1990) Chitosan: a biocompatible material for oral and intravenous administration. En: Gebelein G. G. y Dunn R.L. Progress in Biomedical Polymers. Nueva York, Plenum Press, 283-289.
85. Aiba, S. (1992). Studies on chitosan: 4. Lysozymic hydrolysis of partially N-acetylated chitosan. *Int. J. Biol. Macromol.* 14: 225-228.
86. Nordtveit, R.J., Våurn, K.M. & Smidsrød, O. (1996). Degradation of partially N-acetylated chitosan with hen egg white and human lysozyme. *Carbohydr. Polym.* 29: 163-167.
87. Roncal, T., Oviedo, A., López de Armentia, I., Fernández L. & Villarán, M.C. (2007) High yield production of monomer-free chitosan oligosaccharides by pepsin catalyzed hydrolysis of a high deacetylation degree chitosan. *Carbohydr. Res.* 342: 2750-2756.
88. Lehr, C.M., Bouwstra, J.A., Schacht, E.H. & Junginger, H.E. (1992). In-vitro evaluation of mucoadhesive properties of chitosan and some other natural polymers. *Int. J. Pharm.* 78: 43-48.
89. Shruti, C., Saiqa, M., Jasjeet, K., Zeemat, I. & Sushma, T. (2006). Advances and potential applications of chitosan derivatives as mucoadhesive biomaterials in modern drug delivery. *J. Pharm. Pharmacol.* 58: 1021-1032.

90. Vandevord, P.J., Matthew, H.W.T., Desilva, S.P., Mayton, L., Wu, B. & Wooley, P.H. (2002) Evaluation of the biocompatibility of a chitosan scaffold in mice. *J. Biomed. Mat. Res.* 59(3): 585-590.
91. Aspden, T.J., Mason, J.D. & Jones, N.S. (1997) Chitosan as a nasal delivery system: the effect of chitosan solutions on in vitro and in vivo mucociliary transporters in human turbinates and volunteers. *J. Pharm. Sci.* 86: 509-513.
92. Peluso, G., Petillo, O., Ranieri, M., Santin, M., Ambrosia, L., Calabró, D., Avallone, B. & Balsamo, G (1994). Chitosan-mediated stimulation of macrophage function. *Biomaterials.* 15: 1215-1220.
93. Porporatto, C., Bianco, I.D. & Correa, S.G. (2005) Local and systemic activity of the polysaccharide chitosan at lymphoid tissues after oral administration. *J. Leukocyte Biol.* 78: 62-69.
94. Borges O., Borchard, G., De Sousa, A., Junginger, H.E. & Cordeiro-da-Silva, A. (2007) Induction of lymphocytes activated marker CD69 following exposure to chitosan and alginate biopolymers. *Int. J. Pharm.* 337: 254-264.
95. Zaharoff, D.A., Rogers, C.J., Hance, K.W., Schlom, J. & Greiner, J.W. (2007) Chitosan solution enhances the immunoadjuvant properties of GM-CSF. *Vaccine.* 25: 8673-8686.
96. Artursson, P., Lindmark, T., Davis, S.S. & Illum, L. (1994) Effect of chitosan on the permeability of monolayers of intestinal epithelial cells (Caco-2). *Pharm. Res.* 11: 1358-1361.
97. Kotze, A.F., De Leeuw, B.J. & Luessen, H.L. (1997) Chitosans for enhanced delivery of therapeutic peptides across the intestinal epithelium: In vitro evaluation in Caco-2 cell monolayers. *Int. J. Pharm.* 159: 243-253.
98. Schipper, N.G.M., Olsson, S., Hoostraate, A.J., De Boer, A.G., Vårum, K.M. & Artursson, P. (1997) Chitosan as absorption enhancers for poorly absorbable drugs 2: mechanism of absorption enhancement. *Pharm. Res.* 14: 923-929.

99. Jung, T., Kamm, W., Breitenbach, A., Kaiserling, E., Xiao, J.X. & Kissel, T. (2000) Biodegradable nanoparticles for oral delivery of peptides: is there a role for polymers to affect mucosal uptake? *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 50: 147-60.
100. Smith, J., Wood, E. & Dornish, M. (2004) Effect of chitosan on epithelial cell tight junctions. *Pharm. Res.* 21: 43-49.
101. Van der Merwe, S. M., Verhoef, J. C., Verheijden, J. H. M., Kotze, A. F. & Junginger, H. E. (2004) *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 58: 225-235.
102. Bernkop-Schnürch, A., Guggi, D. & Pinter, Y. (2004). Thiolated chitosans: development and in vitro evaluation of a mucoadhesive, permeation enhancing oral drug delivery system. *J. Control. Release.* 94: 177-86.
103. Saito, H., Wu, X., Harris, J. M. & Hoffman, A. S. (1997) Graft copolymers of poly(ethylene glycol) (PEG) and chitosan. *Macromol. Rapid Commun.* 18: 547-50.
104. Kotze, A. F., Lueßen, H. L., de Leeuw, B. J., de Boer, A. G., Verhoef, J. C. & Junginger, H. E. (1998). Comparison of the effect of different chitosan salts and Ntrimethyl chitosan chloride on the permeability of intestinal epithelial cells (Caco-2). *J. Control. Release.* 51: 35-46.
105. Thanou, M., Verhoef, J. C., Verheijden, J. H. M. & Junginger, H. E. (2001). Intestinal Absorption of Octreotide Using Trimethyl Chitosan Chloride: Studies in Pigs. *Pharm. Res.* 18: 823-828.
106. Bernkop-Schnürch, A., Hornof M. & Guggi, D. (2004). Thiolated chitosans. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 57: 9-17.
107. Krauland, A.H., Guggi, D. & Bernkop-Schnürch, A. (2004) Oral insulin delivery: the potential of thiolated chitosan-insulin tablets on non-diabetic rats. *J. Control. Release.* 95: 547-555.
108. Calvo, P., Remuñán-López, C., Vila-Jato, J.L. & Alonso, M.J. (1997) Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *J. Appl. Polym. Sci.* 63: 125-132.

109. Fernández-Urrusuno, R., Calvo, P., Remuñán-López, C., Vila-Jato, J.L. & Alonso, M.J. (1999) Enhancement of nasal absorption of insulin using chitosan nanoparticles. *Pharm. Res.* 16: 1576-1581.
110. Pan, Y., Li, Y., Zhao, H., Zheng, J., Xu, H., Wei, G., Hao, J. & Cui, F. (2002) Bioadhesive polysaccharide in protein delivery system: chitosan nanoparticles improve the intestinal absorption of insulin in vivo. *Int. J. Pharm.* 249: 139-147.
111. Ma, Z., Yeoh, H.H. & Lim, L.Y. (2002) Formulation pH modulates the interaction of insulin with chitosan nanoparticles. *J. Pharm. Sci.* 91: 1396-1404.
112. Ma, Z., Lim, T.M. & Lim, L.Y. (2005) Pharmacological activity of peroral chitosan-insulin nanoparticles in diabetic rats. *Int. J. Pharm.* 293: 271-280.
113. Vila, A., Sánchez, A., Janes, K.A., Behrens, I., Kissel, T., Vila-Jato, J.L. & Alonso, M.J. (2004). Low molecular weight chitosan nanoparticles as new carriers for nasal vaccine delivery in mice. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 57: 123-131.
114. Xu, Y. & Du, Y. (2003) Effect of molecular structure of chitosan on protein delivery properties of chitosan nanoparticles. *Int. J. Pharm.* 250: 215-226.
115. Zhang, H., Oh, M., Allen, C. & Kumacheva, E. (2004) Monodisperse chitosan nanoparticles for mucosal drug delivery. *Biomacromolecules.* 5: 2461-2468.
116. Mao, H.Q., Roy, K., Troung-Le, V.L., Janes, K.A., Lin, K.Y., Wang, Y., August, J.T. & Leong, K.W. (2001) Chitosan-DNA nanoparticles as gene carriers: synthesis, characterization and transfection efficiency. *J. Control Rel.* 70: 399-421.
117. Krauland, A.H. & Alonso, M.J. (2007) Chitosan/cyclodextrin nanoparticles as macromolecular drug delivery system. *Int. J. Pharm.* 340: 134-142.

118. Chen, L. & Subirade, M. (2005) Chitosan/lactoglobulin core-shell nanoparticles as nutraceutical carriers. *Biomaterials*. 26: 6041-53.
119. De Campos, A.M., Sánchez, A. & Alonso, M.J. (2001) Chitosan nanoparticles: a new vehicle for the improvement of the delivery of drugs to the ocular surface. Application to cyclosporine A. *Int. J. Pharm.* 224: 159-158.
120. El-Shabouri, M. H. (2002) Positively charged nanoparticles for improving the oral bioavailability of cyclosporin-A. *Int. J. Pharm.* 249: 101-108.
121. Wu, Y., Yang, W., Wang, C., Hu, J. & Fu, S. (2005) Chitosan nanoparticles as a novel delivery system for ammonium glycyrrhizinate. *Int. J. Pharm.* 295: 235-245.
122. Janes, K.A., Calvo, P. & Alonso, M.J. (2001) Polysaccharide colloidal particles as delivery system. NSTI Nanotechnology Conference and Trade Show-NSTI Nanotech 2006 Technical Proceedings. 2: 388-391.
123. Alonso, M.J. & Sanchez, A. (2003) The potential of chitosan in ocular drug delivery. *J. Pharm. Pharmacol.* 55: 1451-1463.
124. Prego, C., Torres, D. & Alonso, M.J. (2005) The potential of chitosan for the oral administration of peptides. *Expert Opin. Drug Del.* 2: 843-854.
125. Sánchez, A. & Alonso, M.J. (2006) Nanoparticulate carriers for ocular drug delivery' in Torchilin V, Nanoparticles as Drug Carriers, London World Scientific-Imperial College Press, 649-674.
126. Grenha, A., Seijo, B. & Remuñán-López C (2005) Microencapsulated chitosan nanoparticles for lung protein delivery. *Eur. J. Pharm. Sci.* 25(4/5): 427-434.
127. Loftsson, T. & Brewster, M.E. (1996) Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. *J. Pharm. Sci.* 85: 1017-1025.
128. Irie, T. & Uekama, K. (1999) Cyclodextrins in peptide and protein delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 36: 101-123.

129. Dotsikas, Y. & Loukas, Y.L. (2002) Kinetic degradation study of insulin complexed with methyl-beta cyclodextrin. Conformation of complexation with electrospray mass spectroscopy and ¹H NMR. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 29: 487-494.
130. Merkus, F.W., Verhoef, J.C., Marttin, E., Romeijn, S.G., van der Kuy, P.H.M., Hermens, W.A.J.J. & Schipper, N.G.M. (1999) Cyclodextrins in nasal drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 36: 41-57.
131. Kobayashi, S., Kondo, S. & Juni, K. (1996) Pulmonary delivery of salmon calcitonin dry powders containing absorption enhancers in rats. *Pharm. Res.* 13: 80-83.
132. Challa, R., Ahuja, A., Ali, J. & Khar, R.K. (2005) Cyclodextrins in drug delivery: an updated review. *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 6: E329-E357.
133. Da Silveira, A.M., Ponchel, G., Puisieux, F. & Duchene, D. (1998) Combined poly(isobutylcyanoacrylate) and cyclodextrins nanoparticles for enhancing the encapsulation of lipophilic drugs. *Pharm. Res.* 15: 1051-1055.
134. Boudad, H., Legrand, P., Lebas, G., Cheron, M., Duchene, D. & Ponchel, G. (2001) Combined hydroxypropyl-β-cyclodextrin and poly(alkylcyanoacrylate) nanoparticles intended for oral administration of saquinavir. *Int. J. Pharm.* 218: 113-24.
135. (82) Trapani, A., Garcia-Fuentes, M. & Alonso, M. J. (2008) Novel drug nanocarriers combining hydrophilic cyclodextrins and chitosan. *Nanotechnology.* 19: 185101.
136. Maestrelli, F., Garcia-Fuentes, M., Mura, P. & Alonso, M.J. (2006) A new drug nanocarrier system consisting of chitosan and hydroxypropylcyclodextrin. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 63: 79-86.
137. Teijeiro-Osorio, D., Remuñán-López, C. & Alonso, M.J. (2009) New Generation of Hybrid Poly/Oligosaccharide Nanoparticles as Carriers for the Nasal Delivery of Macromolecules. *Biomacromolecules*. DOI: 10.1021/bm800975j.

138. Teijeiro-Osorio, D., Remuñán-López, C. & Alonso, M.J. (2008) Chitosan/cyclodextrin nanoparticles can efficiently transfect the airway epithelium in vitro. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* En Prensa, Disponible en línea: DOI: 10.1016/j.ejpb.2008.09.020.
139. Park, H. & Lee, K.-Y. (2008) Alginate hydrogels as matrices for tissue engineering. En: Natural-based polymers for biomedical applications. Eds. Reis R.L., Neves N.M., Mano J.F., Gomes M.E., Marques A.P. y Azevedo H.S. Woodhead Publishing Ltd. Cambridge, Inglaterra. Pp. 515-532.
140. Augst, A.D., Kong, H.J. & Mooney, D.J. (2006) Alginate hydrogels as biomaterials. *Macromol. Biosci.* 6: 623-633.
141. Chen, J.L. & Cyr, G.N. (1970) Compositions producing adhesion through hydration. En: Manley R.S. Adhesion in Biological Systems. Academic Press, New York, 163-181.
142. Smart, J.D., Kellaway, I.W. & Worthington, E.C. (1984) An in vitro investigation of mucosa-adhesive materials for use in controlled drug delivery. *J. Pharm. Pharmacol.* 36: 295-299.
143. Batchelor, H.K., Banning, D., Dettmar, P.W., Hampson, F.C., Jolliffe, I.G. & Craig, D.Q.M. (2002) An in vitro mucosal model for prediction of the bioadhesion of alginate solutions to the oesophagus. *Int. J. Pharm.* 238: 123-132.
144. Dettmar, P.W., Strugala, V., Tselepis, C. & Jankowski, J.A. (2007) The effect of alginates on deoxycholic-acid-induced changes in oesophageal mucosal biology at pH 4. *J. Biomat. Sci.-Polym. E.* 18: 317-333.
145. Alonso, M.J., Goycoolea, F.M. & Higuera-Ciapara, I. (2008) Chitosan-polysaccharide blended nanoparticles for controlled drug delivery. En: Natural-based polymers for biomedical applications. Eds. Reis R.L., Neves N.M., Mano J.F., Gomes M.E., Marques A.P. y Azevedo H.S. Woodhead Publishing Ltd. Cambridge, Inglaterra. Pp. 644-679.

146. De, S. & Robinson, D. (2003) Polymer relationships during preparation of chitosan-alginate of poly-L-lysine-alginate nanospheres. *J. Control. Rel.* 89: 101-112.
147. Borges, O., Borchard, G., Coos Verhoef, J., de Sousa, A. & Junginger, H.E. (2005) Preparation of coated nanoparticles for a new mucosal vaccine delivery system. *Int. J. Pharm.* 299: 155-166.
148. Goycoolea, F.M., Lollo, G., Remuñán-López, C., Quaglia, F. & Alonso, M.J. (2009) Chitosan-alginate blended nanoparticles as carriers for transmucosal delivery of macromolecules. *Biomacromolecules*, Submitted.
149. Sarmiento, B., Ribeiro, A., Veiga, F., Sampaio, P., Neufeld, R. & Ferreira, D. (2007) Alginate/Chitosan Nanoparticles are Effective for Oral Insulin Delivery. *Pharm. Res.* 24: 2198-2206.
150. Sarmiento, B., Ferreira, D., Veiga, F. & Ribeiro, A. (2006) Characterization of insulin-loaded alginate nanoparticles produced by ionotropic pre-gelation through DSC and FTIR studies. *Carbohydr. Polym.* 66: 1-7.
151. Kogan, G., Soltes, L., Stern, R. & Gemeiner, P. (2007) Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications. *Biotechnol. Lett.* 29: 17-25.
152. Alho, A.M. & Underhill, C.B. (1989) The hyaluronate receptor is preferentially expressed on proliferating epithelial cells. *J. Cell. Biol.* 108: 1557-1565.
153. Knudson, W., Chow, G. & Knudson, C.B. (2002) CD-44 mediated uptake and degradation of hyaluronan. *Matrix Biol.* 21: 15-23.
154. De la Fuente, M., Seijo, B. & Alonso, M. J. (2008) Novel hyaluronan based nanocarriers for transmucosal delivery of macromolecules. *Macromol. Biosci.* 5: 441-450.
155. Xu, S., Yamanaka, J., Sato, S., Miyama, I. & Yonese, M. (2000) Characteristics of complexes composed of sodium hyaluronate and bovine serum albumin. *Chem. Pharm. Bull.* 48 (6): 779-783.

156. Gowland, G. (1998). Fourfold increase in efficiency of cyclosporin A when combined with hyaluronan: Evidence for mode of drug transport and targeting. *Int. J. Immunother.* 19 (1): 1-7.
157. De la Fuente, M., Seijo, B. & Alonso, M. J. (2008) Bioadhesive hyaluronan/chitosan nanoparticles can transport genes across the ocular mucosa and transfect ocular tissue. *Gene Therapy.* 15: 668-676.
158. Cui, Z., Hsu, C.H. & Mumper, R.J. (2003) Physical characterization and macrophage cell uptake of mannan-coated nanoparticles. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 29: 689-700.
159. Alonso-Sande, M., Cuña, M., Reumñán-López, C., Teijeiro-Osorio, D., Alonso-Lebrero, J.L. & Alonso, M.J. (2006) Formation of new glucomannan-chitosan nanoparticles and study of their ability to associate and deliver proteins. *Macromolecules.* 39: 4152-4158.
160. Cuña, M., Alonso-Sande, M., Remuñán-López, C., Pivel, J.P., Alonso-Lebrero, J.L. & Alonso, M.J. (2006) Development of Phosphorylated Glucomannan-coated chitosan nanoparticles as nanocarriers for protein delivery. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 6: 2887-2895.
161. Alonso-Sande, M., Des Rieux, A., Schneider, Y.-C., Reumñán-López, C., Alonso, M.J. & Préat, V. (2006) Uptake studies of chitosan and chitosan- glucomannan nanoparticles in human intestinal FAE model. 33rd annual meet Controlled Release Society, Viena.
162. Sonia Al-Qadi y Carmen Remuñán-López. *Nanopartículas metálicas: oro.* Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela. 2012. p. 223-248.
163. Bhattacharya, R. & Mukherjee, P. (2008) Biological properties of <<naked>> metal nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 60: 1289-1306.
164. Jain, P.K., Huang, X., El-Sayed, I.H. & El-Sayed, M.A. (2008) Noble metals on the nanoscale: optical and photothermal properties and some

- applications in imaging, sensing, biology and medicine. *Accounts of Chemical Research*. 41 (12): 1578-1586.
165. Gunnarsdottir, S., Rucki, M. & Elfarr, A.A. (2002) Novel glutathione-dependent thiopurine prodrugs: evidence for enhanced cytotoxicity in tumor cells and for decreased bone marrow toxicity in mice. *J. Pharm. Exp. Ther.* 301: 77-86.
166. Hong, R., Han, G., Fernández, J.M., Kim, B.J. Forbes, N.S. & Rotello, V.M. (2006) Glutathione-mediated delivery and release using monolayer protected nanoparticle carriers. *J. Am. Chem. Soc.* 128: 1078-1079.
167. Han, G., Martín, C.T. & Rotello, V.M. (2006a) Stability of gold nanoparticle-bound DNA toward biological, physical, and chemical agents. *Chem. Biol. Drug Des.* 67: 78-82.
168. Han, G., You, C.C., Kim, B.J., Turingan, R.S., Forbes, N.S., Martin, C.T. & Rotello, V.M. (2006b) Light-regulated release of DNA and its delivery to nuclei by means of photolabile gold nanoparticles. *Angew. Chem. Int. Ed.* 45: 3165-3169.
169. Mahdihassan, S. (1971). Colloidal gold as an alchemical preparation. *Janus*. 58: 112-118.
170. Higby, G.J. (1982) Gold in medicine: a review of its use in the West before 1900. *Gold Bull.* 15: 130-140.
171. Daniel, M.C. & Astruc, D. (2004) Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. *Chem. Rev.* 104: 293-346.
172. Chen, P.C., Mwakwari, S.C. & Oyelere, A.K. (2008) Gold nanoparticles: From nanomedicine to nanosensing (Review). *Nanotechnology, Science and Applications*. I: 45-66.
173. Felson, D.T., Anderson, J.J. & Meenan, R.F. (1990) The comparative efficacy and toxicity of second-line drugs in rheumatoid arthritis. Results of two metaanalyses. *Arthritis. Rheum.* 33: 1449-1461.

174. Shaw, I.C. (1999) Gold-based therapeutic agents. *Chem. Rev.* 99: 2589-2600.
175. Berners-Price, S.J., Norman, R.E. & Sadler, P.J. (1987a) The autoxidation and proton dissociation constants of tertiary diphosphines: relevance to biological activity. *J. Inorg. Biochem.* 31: 197-209.
176. Haiduc, I. & Silvestru, C. (1989) Rhodium, iridium, copper and gold antitumor organometallic compounds (review). *In Vivo.* 3: 285-293.
177. Berners-Price, S.J. & Sadler, P.J. (1987b) Interaction of the antitumor Au(I) complex [Au(Ph₂P(CH₂)₂PPh₂)₂]Cl with human blood plasma, red cells, and lipoproteins: ³¹P and ¹H NMR studies. *J. Inorg. Biochem.* 31: 267-281.
178. Gielen, M. & Tiekink, E.R.T. (2005) Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents: The use of metals in medicine. Hoboken N.J. John Wiley and Sons.
179. Sun, R.W.Y., Ma, D.L., Wong, E.L.M. & Che, C.M. (2007) Some uses of transition metal complexes as anti-cancer and anti-HIV agents. *Dalton Trans.* 43: 4884-92.
180. Connor, E.E., Mwamuka, J., Gole, A., Murphy, C.J. & Wyatt, M.D. (2005). Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity. *Small.* 1 (3): 325-327.
181. Shukla, R., Bansal, V., Chaudhary, M., Basu, A., Bhonde, R.R., & Sastry, M. (2005) Biocompatibility of gold nanoparticles and their endocytotic fate inside the cellular compartment: A microscopic overview. *Langmuir.* 21 (23): 10644-10654.
182. Sadauskas, E., Wallin, H., Stoltenberg, M., Vogel, U., Doering, P., Larsen, A. & Danscher, G. (2007) Kupffer cells are central in the removal of nanoparticles from the organism. *Part Fibre Toxicol.* 4: 10.
183. Goodman, C.M., McCusker, C.D., Yilmaz, T. & Rotello, V.M. (2004) Toxicity of Gold Nanoparticles Functionalized with Cationic and Anionic Side Chains. *Bioconjugate Chem.* 15 (4): 897-900.

184. Niidome, T., Yamagata, M., Okamoto, Y., Akiyama, Y., Takahashi, H., Kawano, T., Katayama, Y. & Niidome, Y. (2006) PEG-modified gold nanorods with a stealth character for *in vivo* applications. *J. Control. Release.* 114 (3): 343-347.
185. Turkevich, J., Stevenson, P.C. & Hillier, J. (1951) A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold, discuss. *Faraday Soc.* 55-57.
186. Frens, G. (1973) Controlled nucleation for regulation of particle-size in monodisperse gold suspensions. *Nature Phys. Sci.* 241: 20-22.
187. Schmid, G. (1992) Large clusters and colloids - metals in the embryonic state. *Chem. Rev.* 92: 1709-1727.
188. Brust, M., Walker, M., Bethell, D., Schiffrin, D.J. & Whyman, R. (1994) Synthesis of thiol-derivatized gold nanoparticles in a 2-phase liquid-liquid system. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.:* 801-802.
189. Grabar, K.C., Freeman, R.G., Hommer, M.B. & Natan, M.J. (1995) Preparation and characterization of Au colloid monolayers. *Anal. Chem.* 67: 735-743.
190. Cai, W., Gao, T., Hong, H. & Sun J. (2008) Applications of gold nanoparticles in cancer nanotechnology (Review). *Nanotechnology, Science and Applications* I: 17-32.
191. Chithrani, B.D., Ghazani, A.A. & Chan, W.C.W. (2006) Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells. *Nano. Lett.* 6: 662-668.
192. Chithrani, B.D. & Chan, W.C.W. (2007) Elucidating the mechanism of cellular uptake and removal of protein-coated gold nanoparticles of different sizes and shapes. *Nano. Lett.* 7: 1542-1550.
193. Shimmin, R.G., Schoch, A.B. & Braun, P.V. (2004) Polymer size and concentration effects on the size of gold nanoparticles capped by polymeric thiols. *Langmuir.* 20: 5613-5620.

194. Fan, J., Chen, S.W. & Gao, Y. (2003) Coating gold nanoparticles with peptide molecules via a peptide elongation approach. *Colloids Surf., B Biointerfaces*. 28: 199-207.
195. Otsuka, H., Akiyama, Y., Nagasaki, Y. & Kataoka, K. (2001) Quantitative and reversible lectin-induced association of gold nanoparticles modified with alpha-lactosyl-omega-mercapto-poly(ethylene glycol). *J. Am. Chem. Soc.* 123: 8226-8230.
196. Otsuka, H., Nagasaki, Y. & Kataoka, K. (2003) PEGylated nanoparticles for biological and pharmaceutical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 55: 403-419.
197. Olivier, J.C., Huertas, R., Lee, H.J., Calon, F. & Pardridge, W.M. (2002) Synthesis of pegylated immunonanoparticles. *Pharm. Res.* 19: 1137-1143.
198. Ishii, T., Otsuka, H., Kataoka, K. & Nagasaki, Y. (2004) Preparation of functionally PEGylated gold nanoparticles with narrow distribution through autoreduction of auric cation by alpha-biotinyl-PEG-block-[poly(2-(N,Ndimethylamino) ethyl methacrylate)]. *Langmuir*. 20: 561-564.
199. Khalil, H., Mahajan, D., Rafailovich, M., Gelfer, M. & Pandya, K. (2004) Synthesis of zerovalent nanophase metal particles stabilized with poly(ethylene glycol). *Langmuir*. 20: 6896-6903.
200. Tshikhudo, T.R., Wang, Z. & Brust, M. (2004) Biocompatible gold nanoparticles. *Mater. Sci. Technol.* 20: 980-984.
201. Takae, S., Akiyama, Y., Otsuka, H., Nakamura, T., Nagasaki, Y. & Kataoka, K. (2005) Ligand density effect on biorecognition by PEGylated gold nanoparticles: regulated interaction of RCA(120) lectin with lactose installed to the distal end of tethered PEG strands on gold surface. *Biomacromolecules*. 6: 818-824.
202. Oishi, M., Nakaogami, J., Ishii, T. & Nagasaki, Y. (2006) Smart PEGylated gold nanoparticles for the cytoplasmic delivery of siRNA to induce enhanced gene silencing. *Chem. Lett.* 35: 1046-1047.

203. Jain, P.K., El-Sayed, I.H. & El-Sayed, M.A. (2007) Au nanoparticles target cancer. *Nano Today*. 2 (2): 16.
204. Yih, T.C. & Al-Fandi, M. (2006) Engineered nanoparticles as precise drug delivery systems. *J. Cell. Biochem*. 97: 1184-1190.
205. Eghtedari, M., Liopo, A.V., Copland, J.A., Oraevsky, A.A. & Motamedi, M. (2009) Engineering of Hetero-Functional Gold Nanorods for the in vivo Molecular Targeting of Breast Cancer Cells. *NANOLetters*. 9(1): 287-291.
206. Sun, L., Liu, D. & Wang, Z. (2008) Functional Gold Nanoparticle-Peptide Complexes as Cell-Targeting Agents. *Langmuir*. 24 (18): 10293-10297.
207. Zharov, V.P., Mercer, K.E., Galitovskaya, E.N. & Smeltzer, M.S. (2006) Photothermal nanotherapeutics and nanodiagnostics for selective killing of bacteria targeted with gold nanoparticles. *Biophys. J*. 90: 619-627.
208. Mulvaney, P. (1996) Surface plasmon spectroscopy of nanosized metal particles. *Langmuir*. 12: 788-798.
209. Burda, C., Chen, X., Narayanan, R. & El-Sayed, M.A. (2005) Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes. *Chem. Rev*. 105: 1025-1102.
210. Mocellin, S., Bronte, V. & Nitti, D. (2007) Nitric oxide, a double edged sword in cancer biology: searching for therapeutic opportunities. *Med. Res. Rev*. 27: 317-352.
211. Polizzi, M.A., Stasko, N.A. & Schoenfisch, M.H. (2007) Water-soluble nitric oxide-releasing gold nanoparticles. *Langmuir*. 23: 4938-4943.
212. Mellman, I., Fuchs, R. & Helenius, A. (1986) Acidification of the endocytic and exocytic pathways. *Annu. Rev. Biochem*. 55: 663-700.
213. Engin, K., Leeper, D.B., Cater, J.R., Thistlethwaite, A.J., Tupchong, L. & Mcfarlane, J.D. (1995) Extracellular pH distribution in human tumors. *Int. J. Hypertherm*. 11: 211-216.

214. Anderson, M.E. (1998) Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation. *Chem.-Biol. Interact.* 112: 1-14.
215. Sies, H. (1999) Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic. Biol. Med.* 27: 916-921.
216. Jones, D.P., Carlson, J.L., Samiec, P.S., Sternberg, P., Mody, V.C., Reed, R.L. & Brown, A.S. (1998) Glutathione measurement in human plasma evaluation of sample collection, storage and derivatization conditions for analysis of dansyl derivatives by HPLC. *Clin. Chim. Acta.* 275: 175-184.
217. Jones, D.P., Carlson, J.L., Mody, V.C., Cai, J.Y., Lynn, M.J. & Sternberg, P. (2000) Redox state of glutathione in human plasma. *Free Radic. Biol. Med.* 28: 625-635.
218. Joshi, H.M., Bhumkar, D.R., Joshi, K., Pokharkar, V & Sastry, M. (2006) Gold nanoparticles as carriers for efficient transmucosal insulin delivery. *Langmuir.* 22: 300-305.
219. Bhumkar, D.R., Joshi, H.M., Sastry, M. & Pokharkar, V.P. (2007) Chitosan reduced gold nanoparticles as novel carriers for transmucosal delivery of insulin. *Pharm. Res.* 24: 1415-1426.
220. Angelatos, A.S., Radt, B. & Caruso, F. (2005) Light-responsive polyelectrolyte/gold nanoparticle microcapsules. *J. Phys. Chem. B.* 109: 3071-3076.
221. Sershen, S.R., Westcott, S.L., Halas, N.J. & West, J.L. (2000) Temperature-sensitive polymer-nanoshell composites for photothermally modulated drug delivery. *J. Biomed. Mater. Res.* 51: 293-8.
222. Bikram, M., Gobin, A.M., Whitmire, R.E. & West, J. (2007) Temperature-sensitive hydrogels with SiO₂-Au nanoshells for controlled drug delivery. *J. Control. Release.* 123: 219-27.
223. Miller, A.D. (1992) Human gene-therapy comes of age. *Nature.* 357: 455-460.
224. Thomas, M. & Klibanov, A.M. (2003a) Non-viral gene therapy: polycation-mediated DNA delivery. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 62: 27-34.

225. Check, E. (2002) Gene therapy: a tragic setback. *Nature*. 420: 116-118.
226. Wiethoff, C.M. & Middaugh, C.R. (2003) Barriers to nonviral gene delivery. *J. Pharm. Sci.* 92: 203-217.
227. Berners-Price, S.J., Girard, G.R., Hill, D.T., Sutton, B.M., Jarrett, P.S., Faucette, L.F., Johnson, R.K., Mirabelli, C.K., & Sadler, P.J. (1990) Cytotoxicity and antitumor activity of some tetrahedral bis(diphosphino)gold(I) chelates. *J. Med. Chem.* 33: 1386-1392.
228. Baban, D.F. & Seymour, L.W. (1998) Control of tumour vascular permeability. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 34: 109-119.
229. Brigger, I., Dubernet, C. & Couvreur, P. (2002) Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54: 631-651.
230. Brannon-Peppas, L. & Blanchette, J.O. (2004) Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy. *Adv. Drug Deliver. Rev.* 56: 1649-1659.
231. Paciotti, G.F., Myer, L., Weinreich, D., Goia, D., Pavel, N., McLaughlin, R.E. & Tamarkin, L. (2004) Colloidal gold: a novel nanoparticle vector for tumor directed drug delivery. *Drug Deliv.* 11: 169-183.
232. Visaria, R.K., Griffin, R.J., Williams, B.W., Ebbini, E.S., Paciotti, G.F., Song, C.W. & Bischof, J.C. (2006) Enhancement of tumor thermal therapy using gold nanoparticle-assisted tumor necrosis factor- α delivery. *Mol. Cancer. Ther.* 5: 1014-20.
233. Bergen, J.M., Von Recum, H.A., Goodman, T.T.Massey, A.P. & Pun, S.H. (2006) Gold nanoparticles as a versatile platform for optimizing physicochemical parameters for targeted drug delivery. *Macromol. Biosci.* 6: 506-516.
234. Dixit, V., Van den Bossche, J., Sherman, D.M., Thompson, D.H. & Andres, R.P. (2006) Synthesis and grafting of thioctic acid-PEG-folate conjugates onto Au nanoparticles for selective targeting of folate receptor-positive tumor cells. *Bioconjug. Chem.* 17: 603-609.

235. Chen, Y.H., Tsai, C.Y., Huang, P.Y., Chang, M.Y., Cheng, P.C., Chou, C.H., Chen, D.H., Wang, C.R., Shiau, A.L. & Wu, C. L. (2007b) Methotrexate conjugated to gold nanoparticles inhibits tumor growth in a syngeneic lung tumor model. *Mol. Pharm.* 4: 713-722.
236. Villafuerte Robles, Leopoldo., (2011), Los excipientes y su funcionalidad en productos farmacéuticos sólidos., Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional de México, Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, Volumen 42, Número 1, pp. 18-36.
237. Miinea L., Farina J., Kallam M., Deorkar N. A New World of Excipients for Oral Solid Dosage Formulation. *Am. Pharm. Rev. White paper*, Disponible en: http://www.americanpharmaceuticalreview.com/images/MBI_A_New_World_of_Excipients.pdf. Consultado el 7 de mayo de 2010.
238. Edge S., Mueller S., Price R., Shur J. 2008. Factors affecting defining the quality and functionality of excipients used in the manufacture of dry powder inhaler products. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 34(9):966-973.
239. Johanson J. R. Defining the physical functionality of excipients, bulk drugs and formulations. Disponible en: <http://www.indicizer.com/files/DefiningExipients.pdf>. Consultado el 10 de septiembre de 2010.
240. Material masters of r&d. 2008. *Manuf. Chem.*, 3 de septiembre. Consultado el 6 de octubre de 2010. Disponible en: http://www.manufacturingchemist.com/technical/article_page/Material_masters_of_r_and_d/41230.
241. USP NF 2002, United States Pharmacopoeial convention Inc. 12601 Twinbrook Parkway, Rockville, Maryland 20852, USA, pp. 2148.
242. The Joint IPEC – PQG Good Manufacturing Practices Guide for pharmaceutical excipients, 2006. The International Pharmaceutical Excipients Council and Pharmaceutical Quality Group, pp. 3. Consultado el 31 de enero de 2011, disponible en: [http://www.ipec-europe.org/UPLOADS/IPEC_PQG_GMP_Guide_2006\(1\).pdf](http://www.ipec-europe.org/UPLOADS/IPEC_PQG_GMP_Guide_2006(1).pdf).

243. Florence, A., Sakthivel, T. 2003. Dendrimers & Dendrons: Facets of Pharmaceutical Nanotechnology. *Drug Deliv. Tech.*, 3(5) julio/agosto, publicado en línea el 28 de marzo. Disponible en: <http://www.drugdeliverytech.com/ME2/dirmod.asp?sid=&nm=&type=Publishing&mod=Publications%3A%3AArticle&mid=8F3A7027421841978F18BE895F87F791&tier=4&id=9B9BA1DAA5BE455A85A81D97382FE885>.
244. Bharali, D. J., Khalil, M., Gurbuz, M., Simone, T. M., Mousa, S. A. 2009. Nanoparticles and cancer therapy: A concise review with emphasis on dendrimers. *Int. J. Nanomed.* 4:1-7.
245. Kingsley, J. D., Dou, H., Morehead, J., Rabinow, B., Gendelman, H. E., Destache, C. J. 2006. Nanotechnology: A Focus on Nanoparticles as a Drug Delivery System. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 1:340–350.
246. Yang, W., Thordarson, P., Gooding, J. J., Ringer, S. P., Braet, F. 2007. Carbon nanotubes for biological and biomedical applications. *Nanotechnology* 18, I.D. del artículo: 412001 (12 páginas).
247. Smith, B. R., Ruegsegger, M., Barnes, P. A., Ferrari, M., Lee, S. C. 2006. Nanodevices in biomedical applications, capítulo 13, pp. 363-398. En: Ferrari, M., Lee, A. P., Lee, L. J. (Eds) *BioMEMS and Biomedical Nanotechnology, Volumen I Biological and Biomedical Nanotechnology*, Springer science and business media, LLC. NY, USA. DOI: 10.1007/978-0-387-25842-3_13.
248. Villafuerte Robles, L. 2007. El diseño de medicamentos al inicio del siglo 21. Los diferentes tipos de medicamentos VI. Nanotecnología Farmacéutica. *Informacéutico*, 14(1):15-32.
249. Taylor J. 2006. Current Trends and Challenges in the Excipients Market. *Pharm. Tech.* Octubre 1. Consultado el 30 de julio de 2009. Disponible en: <http://pharmtech.findpharma.com/pharmtech/Excipients/Current-Trendsand-Challenges-in-the-Excipients-Ma/ArticleStandard/Article/detail/378396>.

250. Seufert, K., Zeleznik, K. 2009. The attractive economics of high-functionality excipients. *Tab. Caps.*, 7(5):10-15.
251. Hancock, B. C. 2009. Achieving a Perfect Tablet Formulation: Evolution, or Intelligent Design? *Am. Pharm. Rev.* – Marzo. Consultado el 31 de julio de 2009. Disponible en <http://americanpharmaceuticalreview.com/ViewArticle.aspx?ContentID=3969>.
252. Chang D., Chang R. K. 2007. Review of Current Issues in Pharmaceutical Excipients. *Pharm. Tech.*, Mayo 2. Disponible en: <http://pharmtech.findpharma.com/pharmtech/Excipients/Review-of-Current-Issues-in-Pharmaceutical-Excipie/ArticleStandard/Article/detail/423551>. Consultado el 25 de marzo de 2010.
253. Viscasillas A. 2008. Aportación al diseño de un nuevo excipiente tipo “coprocessed product” para compresión directa. Tesis de doctorado de la Universidad de Barcelona, España.
254. Moreton. R. Ch. 2006. Functionality and Performance of Excipients. *Pharm. Tech.* Octubre 1. Consultado el 25 de marzo de 2010. Disponible en: <http://pharmtech.findpharma.com/pharmtech/Excipients/Functionalityand-Performance-of-Excipients/ArticleStandard/Article/detail/378395>.
255. Rios, M. 2009. Debating Excipient Functionality. *Pharm. Tech.*, septiembre. Consultado el 25 de marzo de 2010. Disponible en: <http://pharmtech.findpharma.com/pharmtech/article/articleDetail.jsp?id=371132&sk=&date=&pageID=4>.
256. Patel, A. 2009. Multifunctional excipients creating new possibilities. *Contract Pharma*, noviembre/diciembre. Disponible en: <http://www.contractpharma.com/articles/2009/11/multifunctional-excipients>. Consultado el 26 de abril de 2010.
257. Silverstein, I., Falk, A., Carter, D., Guazzaroni-Jacobs, M., Schoneker, D. 2008. Excipient-Control Strategies. *Pharm. Tech.*, octubre.

Consultado el 30 de septiembre de 2010. Disponible en:
<http://pharmtech.findpharma.com/pharmtech/article/articleDetail.jsp?id=556262&sk=&date=&pageID=3>.

258. Lerke S. A. 2004. Excipient Sourcing Challenges in Pharmaceutical Research & Development. *Am. Pharm. Rev.* Noviembre/Diciembre, 7(6):58-61.
259. Block, L. H., Moreton, R. C., Apte, S. P., Wendt, R. H., Munson, E. J., Creekmore, J. R., Persaud, I. V., Sheehan, C., Wang, H. 2009. Co-processed Excipients. *Pharmacopoeial Forum*, 35(4):1026-1028.
260. Rojas Cortés, Manuel Guillermo; Vallejo Díaz, Bibiana Margarita; Perilla, Jairo Ernesto. *Los biopolímeros como materiales para el desarrollo de productos en aplicaciones farmacéuticas y de uso biomédico*. Revista Ingeniería e investigación. Vol. 28 No. 1, abril de 2008, p. 57-71.
261. USP United States Pharmacopeial Convention, Inc., Farmacopea de los estados Unidos de América 29, Formulario Nacional 24. Edición en español. Philadelphia, USA. 2006. pp. 3050-3058.
262. Ratner. B. D., En: *Biomaterials Science*, Ed. por B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen y J.E. Lemons, Elsevier, San Diego, 2004, pp. 10-19.
263. Dill, K., Strengthening Biomedicine's Roots., *Nature*, Vol. 400, 1999, pp. 309-310.
264. Su, Y. Ch., Lin, L., A water – powered micro drug delivery system., *Journal of Micro Electromechanical Systems*, Vol. 13, 2004, pp. 75- 82.
265. Zweers, M. L., Biodegradable nanoparticles for intravascular drug delivery., Thesis Doctoral Dissertation, Thesis University of Twente, Enschede, The Netherlands, 2003.
266. Saéz, V., Hernández, E., Angulo, L. S., Mecanismos de liberación de fármacos desde materiales poliméricos., *Revista Iberoamericana de Polímeros*, Vol. 5, 2004, pp. 55-70.

267. Saez, V., Hernández, E., López, L., Liberación controlada de fármacos., Aplicaciones biomédicas, Revista Iberoamericana de Polímeros, Vol. 4, 2003, pp. 111-122.
268. Peppas, N. A., Wright, S. L., Drug diffusion and binding in ionizable interpenetrating networks from poly(vinyl alcohol) and poly(acrylic acid)., European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, Vol. 46, 1998, pp. 15-29
269. Özdemir, N y Sahin, J., Design of a controlled release osmotic pump system of ibuprofen, International Journal of Pharmaceutics, Vol. 158, 1997, pp. 91-97.
270. Langer, R., Peppas, N. A., Advances in biomaterials, drug delivery and bionanotechnology., AIChE, Vol. 49, 2003, pp. 2990- 3006.
271. Peppas, N. A., Intelligent therapeutics: biomimetic system and nanotechnology in drug delivery., Advanced Drug Delivery Reviews, Vol. 56, 2004(b), pp.1529-1531.
272. Balakrishnan, B., Jayakrishnan, A., Self-cross-linking biopolymers as injectable in situ forming biodegradable scaffold, Biomaterials, Vol 26, 2005, pp.3941-3951.
273. Abramson, S., Alexander, H., Best, S., Biomaterials Science., Ed. por B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen y J.E. Lemons, Elsevier, San Diego, 2004, pp. 67-68, 78-79, 100-112.
274. Mulhbachter, J., Ispas–Szabo, P., Oullet, M., Alex, S., Matesscu, A., Mucoadhesive properties of cross – linked high amylose starch derivates., International Journal of Biological Macromolecules, Vol. 40, 2006, pp. 9-14.
275. Langer, R. S., Tirrel, D., A Designing materials for biology and medicine., Nature, Vol. 428, 2004, pp. 487-492.
276. Podual, K., Doyle, F. J. III., Peppas, N. A., Glucose-sensitivity of glucose oxidase-containing cationic copolymer hydrogels having poly(ethylene glycol) grafts., Journal of Controlled Release, Vol. 67, 2000, pp. 9-17.

277. Keys, K., Andreopoulos, F., Peppas, N., Poli (ethylene glycol) Star Polymer Hidrogels., *Macromolecules*, Vol. 31, 1998, pp. 8149-8156.
278. Kavimandan, N. J., Losi, E., Peppas, N. A., Novel delivery system based on complexation hydrogels as delivery vehicles for insulin-transferrin conjugates., *Biomaterials*, Vol. 27, 2006, pp.3846-3854.
279. Tomalia, D. A., Fréchet, J. M., Introduction to “dendrimers and dendritic polymers”., *Progress in Polymer Science*, Vol. 30, 2005, pp. 217-219.
280. Tabata, Y., The importance of drug delivery system in tissue engineering., *PSTT*, Vol. 3, 2000, pp. 80-89.
281. Modi, S., Jain, J. P., Kumar, N., Polymer-drug conjugates: Recent development for anticancer drugs., *CRIPS*, Vol. 5, 2004, pp.2-8.
282. Peppas, N. A., Huang, Y., Nanoscale technology of mucoadhesive interactions., *Advanced Drug Delivery Reviews*, Vol. 56, 2004, pp.1675-1687.
283. Luo, Y., Kirker, K. y Prestwich, G., Cross-linked hyaluronic acid hidrogel films: new biomaterials for drug delivery., *Journal of Controlled Release*, Vol. 69, 2000, pp.169-184.
284. Arangoa. M. A., Campanero, M. A., Irache J. M., Potencial bioadhesivos de las nanopartículas de gliadina en el estómago., *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, Vol 33, 2004, pp. 38-47
285. Gao, X., Tao, W., Lu, W., Zhang Q., Zhang, Y., Jiang, X., Fu, S., Lectin-conjugated PEG-PLA nanoparticles: Preparation and brain delivery after intranasal administration., *Biomaterials*, Vol. 27, 2006, pp. 3482-3490
286. Peppas, N. A., Devices based on intelligent biopolymers for oral protein delivery., *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 277, 2004(a), pp.11-17.
287. Morishita, M., Goto, T., Nakamura, K., Lowman, A. M., Takayama, K., Peppas, N. A., Novel oral insulin delivery system based on complexation polymer hidrogels: Single and multiple administration studies

- in type 1 and 2 diabetic rats., *Journal of Controlled Release*, Vol. 110, 2006, pp. 587-594.
288. Mitragotri, S., Effect of therapeutic ultrasound on partition and diffusion coefficients in human stratum corneum., *Journal of Controlled Release*, Vol. 71, 2001, pp. 23-29.
289. Hoffman, A. S., En *Biomaterials Science*., Ed. por. Ratner B.D., Hoffman A.S., Schoen F.J y. Lemons J.E, Elsevier, San Diego, 2004, pp. 107-112.
290. Elisseeff, J., Ansetht, K., Simst, D., McIntosh, W., Transdermal photopolymerization for minimally invasive implantation., *Proc. Natl.Acad. Sci.* Vol. 96, 1999, pp. 3104-3107.
291. Schwarz, U., Forces and elasticity in cell adhesion., Tesis presentada a la Universidad de Potsdam, para optar al grado de Doctor of Philosophy, 2004, pp. 1-16.
292. Ratner, B. D., Hoffman, A. S., En: *Biomaterials Science*, Ed. por. Ratner B.D., Hoffman A.S., Schoen F.J y. Lemons J.E, Elsevier, San Diego, 2004, pp. 201-215.
293. Parker, A .P, Reynolds, P. A, Lewis, A. L., Investigation into potential mechanisms promoting biocompatibility of polymeric biomaterials containing the phosphorylcholine moiety A physicochemical and biological study., *Colloids and Surfaces B:Biointerfaces*, Vol. 46, 2005, pp. 204-217.
294. Yeh, P.Y., Berenson, M. M., Samowitz, W.S., Kopecková, P., Kopecek, J., Site-specific drug delivery and penetration enhancement in the gastrointestinal tract., *Journal of Controlled Release*, Vol. 36, 1995, pp.109-124.
295. Tsapis, N., Bennett, D., Jackson, B., Weitz, D. A., Edwards, D. A., Trojan particles: Large porous carriers of nanoparticles for drug delivery., *PNAS*, Vol. 99, 2002, pp. 12001-12005
296. Dunbar, J., Illeperuma, A., Milovanovic, J., A placebo - and active comparator - controlled dose escalation study of the pharmacokinetics, pharmacodynamics, and safety of inhaled large porous particle (AIR®)

- epinephrine in normal volunteers., *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, Vol. 113 (Sup 1), 2004, pp.S405-S433.
297. Owens. D. E., Peppas, N. A., Opsonization, biodistribution y pharmacokinetics of polymeric nanoparticles., *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 307, 2006, pp.93-102.
298. FDA., Required Biocompatibility Training and Toxicology Profiles for Evaluation of Medical Devices
299. Kleinmann, G., Apple, D.J., Chew, J., Hydrophilic acrylic intraocular lens as a drug-delivery system: Pilot study., *J. Cataract. Refract.*, Vol. 32, 2006, pp.652-654.
300. WHO., Medical Device Regulations Global overview and guiding principles., World Health Organization, Geneva, 2003.
301. Satturwar, P.M., Fulzele, S.V., Dorle, A.K., Biodegradation and In vivo Biocompatibility of Rosin: a natural film forming polymer., *AAPS PharmSciTech*, Vol. 4, 2003, Article 55, pp. 1-6.
302. Zhang, H., Cui, W., Bei, J., Wang, S., Preparation of poly (lactide – co-glycolide –co-caprolactone) nanoparticles and their degradation behaviour in aqueous solution., *Polymer Degradation and Stability*, Vol. 91, 2006, pp. 1929-1936.
303. Salamat Miller, N., Chittchang, M., Johnston, T.P., The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery., *Advanced Drug Delivery Reviews*, Vol. 7, 2005, pp. 1666 – 1691.
304. Nanotecnología Farmacéutica. Villafuerte-Robles Leopoldo. Razón y palabra: primera revista digital en América Latina especializada en tópicos de comunicación ISSN 1605-4806.