



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN  
Pegilación de fármacos y acarreadores de uso  
farmacéutico

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

PRESENTA

**AGUIRRE PANTOJA ARELI AMAIRANI**

**Ciudad Universitaria, CD. MX., 2021**





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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: LEMUS BARAJAS MA GUADALUPE

**VOCAL:** Profesor: LLERA ROJAS VIRIDIANA GISELA

**SECRETARIO:** Profesor: LEYVA GOMEZ GERARDO

**1er. SUPLENTE:** Profesor: MAJLUF TREJO ANDREA SAORI

**2° SUPLENTE:** Profesor: ZURITA CRUZ AURORA ANAIS

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**LABORATORIO 307, SEGUNDO PISO DEL EDIFICIO F, FACULTAD DE QUÍMICA**

**ASESOR DEL TEMA:**

**LEYVA GOMEZ GERARDO**

---

**SUSTENTANTE:**

**AGUIRRE PANTOJA ARELI AMAIRANI**

---

## Resumen

El polietilenglicol (PEG) es un polímero sintético versátil, aprobado por la FDA, con propiedades únicas como baja toxicidad, flexibilidad y alta solubilidad en agua y otros disolventes orgánicos que le permite tener aplicaciones farmacéuticas como solubilizante, plastificante, aglutinante, y base de ungüento y supositorios.

Algunos de los mayores retos al diseñar moléculas con fines terapéuticos son su baja solubilidad y por lo tanto su baja biodisponibilidad. Reconocimiento por el sistema inmune generando efectos adversos, degradación por enzimas disminuyendo la disponibilidad en circulación y su baja especificidad, afectando no solo a las células de interés sino a todas aquellas que se encuentran en su paso.

Por este motivo, se han empleado acarreadores de fármacos para mejorar la eficacia y seguridad del fármaco mientras se controla el tiempo y lugar de liberación, estos sistemas también tienen como ventaja una mayor aceptación de parte de los pacientes al reducir la frecuencia de dosis ya que extiende la duración de la acción. Sin embargo, estos sistemas también pueden presentar desventajas como la posible toxicidad de los materiales utilizados, tener una baja circulación en sangre, interacción no específica, degradación, baja solubilidad, un rápido aclaramiento renal y ser propensos a ser neutralizados por anticuerpos.

Para resolver estos inconvenientes se han empleado técnicas como la pegilación de fármacos y acarreadores farmacéuticos, que consiste en unir moléculas de polietilenglicol, ya sea de manera covalente o no, a moléculas orgánicas pequeñas y macromoléculas como proteínas y oligonucleótidos, así como a acarreadores y vesículas mediante procesos químicos o físicos, con el fin de mejorar sus propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas.

La pegilación es una técnica prometedora que confiere sigilosidad al minimizar los efectos adversos inmunológicos, disminuyendo la interacción con fagocitos, además de incrementar la hidrofiliidad, y prolongar su tiempo de residencia en órganos.

Debido a los beneficios que ha demostrado conferir a las moléculas terapéuticas, actualmente se encuentran en el mercado productos elaborados con esta tecnología, de los cuáles las proteínas constituyen un mayor porcentaje, sin embargo, el estudio y desarrollo de esta estrategia podrá dar lugar a terapias innovadoras que incluyan diversas modalidades terapéuticas.

## Contenido

Agradecimientos .....	5
Índice de figuras .....	6
Índice de tablas .....	7
Siglas y abreviaturas.....	8
Justificación .....	10
Objetivo.....	11
Metodología.....	12
1. Polietilenglicol .....	13
1.1. Propiedades físicas y químicas.....	13
1.2. Tipos .....	14
1.3. Aplicaciones.....	17
1.3.1. Solubilizantes.....	20
1.3.2. Potenciador de la permeación .....	21
1.3.3. Efecto de prolongación en el sistema circulatorio.....	21
1.3.4. Modificador de la liberación .....	22
1.3.5. Aglutinante y plastificante .....	22
2. Pegilación .....	23
2.1. Implicaciones químicas y biológicas.....	24
2.2. Inconvenientes .....	27
3. Pegilación de fármacos .....	27
3.1. Historia .....	32
3.2. Ventajas.....	34
3.3. Mecanismos .....	35
3.3.1. Síntesis orgánica.....	36
3.3.1.1. PEG N-hidroxisuccinimida (NHS) ésteres y métodos de acoplamiento .....	39
3.3.2. Radiación ionizante .....	40
3.4. Ejemplos .....	46
3.4.1. Caracterización de conjugados con PEG .....	54
3.5. Perspectivas .....	56
4. Pegilación de acarreadores farmacéuticos .....	56
4.1. Historia .....	60

4.2.	Ventajas.....	62
4.3.	Mecanismos .....	63
4.3.1.	Recubrimiento de la superficie .....	63
4.3.1.1.	Conformaciones del PEG .....	64
4.3.2.	Injerto de PEG.....	65
4.3.3.	Radiación ionizante .....	65
4.4.	Ejemplos .....	66
4.5.	Caracterización de acarreadores pegilados .....	67
4.6.	Perspectivas .....	69
5.	Vacuna COVID-19 pegilada.....	71
	Conclusiones .....	74
	Bibliografía .....	76

## Agradecimientos

A mi tutor, el Dr. Gerardo Leyva Gómez, por las enseñanzas, guía y orientación para la realización de este trabajo.

A la UNAM y la Facultad de Química por las herramientas que me brindó y los conocimientos que adquirí a lo largo de mi carrera.

A mis padres y hermana por el apoyo incondicional y los valores que me brindaron, sin los cuales no habría llegado hasta aquí.

A mis amigos por apoyarme y animarme en todo momento.

Muchas gracias a todos.

El Dr. Gerardo Leyva Gómez agradece el financiamiento otorgado por el programa CONACYT A1-S-15759.

## Índice de figuras

[Figura 1.](#) Estructura química del polietilenglicol.

[Figura 2.](#) Mecanismo de síntesis de mPEG mediante polimerización aniónica.

[Figura 3.](#) Ilustración esquemática del concepto de profármaco.

[Figura 4.](#) Mecanismo de liberación de fármaco mediante orientación pasiva.

[Figura 5.](#) Mecanismo de liberación de fármaco mediante orientación activa.

[Figura 6.](#) Mecanismo de internalización de un profármaco.

[Figura 7.](#) Los compuestos de NHS éster reaccionan con nucleófilos para liberar al grupo saliente NHS y formar un producto acetilado.

[Figura 8.](#) Mecanismo propuesto de la pegilación inducida con radiación gamma de cisplatino.

[Figura 9.](#) Mecanismo propuesto de la pegilación de isoniazida inducida con radiación gamma.

[Figura 10.](#) Conjugación de PEG con una proteína mediante una unión disulfuro.

[Figura 11.](#) Estructura del conjugado de pegloticasa.

[Figura 12.](#) Mecanismo de pegilación usado para la síntesis de PEG-Intron®.

[Figura 13.](#) PEG ramificado utilizado para la pegilación de Pegasys®.

[Figura 14.](#) Reacción de pegilación usada para la síntesis de Mircera® con mPEG succinimidil butanoato unido a lisina 52 y 56.

[Figura 15.](#) Estructura de Omontys®, un péptido pegilado. Un enlazador ramificado conecta los dos péptidos a PEG ramificado de 40 kDa.

[Figura 16.](#) Estructura del PEG lineal para modificar INF  $\beta$ -1a.

[Figura 17.](#) Naloxona con PEG unido al grupo 6- $\alpha$ -hidroxilo.

[Figura 18.](#) Ejemplos de sistemas de liberación de fármacos coloidales.

[Figura 19.](#) Mecanismos por los cuales el PEG previene de la unión de proteínas a sistemas acarreadores pegilados.

[Figura 20.](#) Estructura de una nanopartícula lipídica que contiene mRNA.

## Índice de tablas

[Tabla 1.](#) Estructura química del polietilenglicol y sus derivados.

[Tabla 2.](#) PEGs con varias formas y agentes de funcionalización.

[Tabla 3.](#) Lista de preparaciones basados en los diferentes grados de PEG y sus rutas de administración.

[Tabla 4.](#) Historia de la pegilación.

[Tabla 5.](#) Guía general para la selección de reactivos para pegilación.

[Tabla 6.](#) Fármacos pegilados aprobados por la FDA.

[Tabla 7.](#) Moléculas conjugadas con PEG en desarrollo clínico.

[Tabla 8.](#) Métodos para determinar el peso molecular de un polímero.

[Tabla 9.](#) Nanoacarreadores pegilados clínicamente aprobados.

[Tabla 10.](#) Principales características de las vacunas de Pfizer-BioNTech y Moderna.

## Siglas y abreviaturas

Å	Ángstrom
ACE2	Enzima Convertidora de Angiotensina 2
ADN	Ácido desoxirribonucleico
°C	Grados Celsius
CDDS	Sistemas de liberación de fármacos coloidales
-COOH	Ácido carboxílico
Covid-19	Enfermedad por coronavirus 2019
CXCL12	Quimiocina 12
Da	Dalton
DCC	Diciclohexil carbodiimida
DDS	Sistemas de liberación de fármacos
DL <sub>50</sub>	Dosis Letal para el 50% de la población
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDIC	(N-(3-dimetilaminopropilo)-N'-etilcarbodiimida, clorhidrato)
EPR	Efecto de mayor Permeabilidad y Retención
Fab	Fragmento de unión a antígeno
FDA	Food and Drug Administration
g	Gramos
HIC	Cromatografía de interacción hidrofóbica
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficiencia
Gy	Gray
IL	Interleucina
INF	Interferón
IR	Infrarrojo
J	Joule
kDa	Kilo Dalton
keV	Kilo electronvoltio
kg	Kilogramos
LET	Transferencia de Energía Lineal
MALDI	Desorción/ionización mediante laser asistida por matriz
MeV	Mega electronvoltio
mg	Miligramos
mm	Milímetro
mol	Cantidad de sustancia
mPEG	Metoxi polietilenglicol
mPEG SC	Metoxi polietilenglicol succinimidil carbonato
mRNA	Ácido ribonucleico mensajero
NHS	N-hidroxisuccinimida
nm	Nanómetros
-NO <sub>2</sub>	Dióxido de nitrógeno
-NPC	Nitrofenil carbonato

NPL	Nanopartícula lipídica
-OH	Hidroxilo
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPSS	Ortopiridildisulfuro
PBAE	Poli( $\beta$ -aminoésteres)
PDGFB	Subunidad B del factor de crecimiento derivado de plaquetas
PDI	Índice de polidispersidad
PEG	Polietilenglicol
pH	Potencial de hidrogeno
PLA	Polilactida
p/p	Porcentaje peso de soluto / peso de solución
®	Registered trademark (Marca registrada)
rad	Dosis Absorbida de Radiación
s	Segundos
SARS-CoV-2	Síndrome Respiratorio Agudo Severo por Coronavirus 2
SDS-PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico
SFM	Sistema Fagocítico Mononuclear
SI	Sistema Internacional de Unidades
siRNA	Ácido ribonucleico pequeño de interferencia
TNF	Factor de Necrosis Tumoral
VEGF	Factor de Crecimiento Endotelial Vascular
$\mu\text{m}$	Micrómetro

## Justificación

El potencial de las moléculas terapéuticas se ve obstaculizado por aspectos como su baja solubilidad, rápida degradación o reconocimiento por el sistema inmune y por lo tanto un corto tiempo de vida media, disminuyendo así su efecto sobre las células de interés. Una manera de contrarrestar este tipo de problemas es el aumento de dosificación, sin embargo, esto disminuiría su aplicabilidad clínica, principalmente para el tratamiento de enfermedades crónicas.

A raíz de estos problemas, y con el objetivo de desarrollar formulaciones que favorezcan los efectos terapéuticos mejorando las características farmacocinéticas y farmacodinámicas en conjunto con su aceptación por parte de los pacientes, se han implementado nuevas tecnologías que permitan mejorar el perfil de los medicamentos. Entre estas tecnologías se encuentra la pegilación, un método innovador que consiste en unir covalentemente moléculas de polietilenglicol a una o más moléculas con propósitos terapéuticos.

La pegilación puede mejorar el tiempo de mantenimiento de fármacos similares a las proteínas, liposomas y nanopartículas mediante un efecto protector. Esta habilidad es usada para obtener una vida media mayor y otras propiedades farmacéuticas. El polietilenglicol es un polímero inofensivo, no inmunogénico, no antigénico, extremadamente soluble en agua y aprobado por la FDA que ha demostrado un rol significativo en la liberación de fármacos.

Desde principios de los 90's se encuentran más de 10 productos elaborados con esta tecnología y nuevos agentes pegilados se encuentran en ensayos clínicos, actualmente la pegilación es la tecnología mejor establecida para la extensión del tiempo de vida media que ha sido probada en humanos y se considera segura. La pegilación ha tenido progresos importantes desde su aparición, yendo desde la pegilación aleatoria a la sitio específica, del uso de PEG lineal hasta PEG ramificado o con diferentes formas y funcionalizaciones (Swierczewska et al., 2015; Yadav & Dewangan, 2020).

Por las mejoras e impacto que ha llegado a tener esta tecnología es conveniente una actualización acerca de los avances que ha tenido para el continuo desarrollo y la obtención de resultados óptimos, un área a considerar es la pegilación de acarreadores farmacéuticos, ya que sus estudios han dado lugar a formulaciones con mejoras en su perfil, sin embargo, a diferencia de proteínas terapéuticas, estos abarcan un bajo porcentaje del total de productos pegilados comercializados, sin embargo, presentan ventajas interesantes con posibilidad de ser ampliadas.

## Objetivo

### *Objetivo general*

Realizar una investigación detallada acerca de la tecnología de pegilación de fármacos y acarreadores farmacéuticos, su historia, ventajas, metodologías, productos comercializados y estudios posteriores.

### *Objetivos particulares*

- Realizar una revisión documental referente a las características físicas y químicas del polímero polietilenglicol y sus aplicaciones en la industria farmacéutica.
- Conocer los antecedentes de la pegilación de fármacos y acarreadores farmacéuticos y sus avances a través del tiempo.
- Describir y analizar los diferentes métodos de pegilación de fármacos y las ventajas que representa en su aplicación terapéutica.
- Describir y analizar los diferentes métodos de pegilación de acarreadores de fármacos y su ventaja en su aplicación terapéutica.
- Recopilar información acerca de los productos pegilados comercializados y los que están en desarrollo clínico.

## Metodología

La metodología empleada para realizar el presente trabajo se encuentra descrita a continuación:

1. Selección del tema
2. Estructuración del trabajo monográfico
3. Planteamiento de la justificación y objetivos
4. Búsqueda de la información:

Se realizó una revisión de artículos seleccionados de la base de datos Scopus, las palabras clave que se emplearon para la búsqueda fueron *pegylation, carrier pegylation, ionizing radiation polymers, PEG reagents, radiation induced pegylation, COVID-19 vaccine*.

5. Análisis y redacción del trabajo monográfico
6. Autocorrección

## 1. Polietilenglicol

Los polímeros tienen un papel importante en el área farmacéutica para la formulación de sistemas de liberación de fármacos. Sus funciones van desde solubilizante, estabilizador, modificadores de liberación, mejoradores de la biodisponibilidad, acarreadores o como soportes mecánicos. Un gran número de polímeros naturales y sintéticos tales como el almidón, derivados de celulosa, poliésteres, polianhídros, etc., son utilizados actualmente en sistemas de liberación de fármacos, sin embargo, el polietilenglicol (PEG) es el polímero de elección.

El polietilenglicol es un polímero lineal, anfifílico compuesto de subunidades repetitivas de óxido de etileno, cuyo número está representado por  $n$  en su estructura química (Figura 1). Cada residuo de óxido de etileno tiene un peso molecular de 44 Daltons (Da) y, por lo tanto,  $n \times 44$  Da representa el peso molecular total de la cadena de polietilenglicol.



**Figura 1.** Estructura química del polietilenglicol

Los polietilenglicoles son inertes, no tóxicos y contienen dos grupos hidroxilo terminales que pueden ser químicamente activados, además es biocompatible, barato, versátil y con muchas aplicaciones aprobadas por la FDA, es fácil de obtener en grandes cantidades y ha sido utilizado en la industria con numerosas aplicaciones desde 1950 como apoyo en separaciones y purificaciones, como formador de matrices, agente precipitante de proteínas, agente inductor para fusión celular, anticongelante, lubricante para dispositivos médicos, excipiente en formulaciones farmacéuticas y cosmetológicas y como aditivo en alimentos debido a sus propiedades no tóxicas. Ha sido rebautizado como un estabilizador estérico clásico que es capaz de escapar del sistema inmune del hospedero (D'souza & Shegokar 2016; Poovi & Damodharan 2018; Bailon & Berthold 1998).

### 1.1. Propiedades físicas y químicas

El PEG puede ser sintetizado mediante la polimerización aniónica del óxido de etileno y cualquier iniciador hidroxilo. También pueden ser derivados de epoxietanos por la polimerización de la cadena abierta.

Su estado físico depende de su peso molecular, los PEG de 100 a 700 Da se encuentran en estado líquido, los PEG de 1000 a 2000 Da son sólidos blandos y los PEG con peso molecular mayor a 2000 Da son sólidos cristalinos con punto de fusión de alrededor de 63 °C. Su degradación térmica es acelerada a 195 °C, comúnmente observada en PEGs mayores a 20

kDa y tienen una alta termosensibilidad con bajo potencial redox. La mezcla o copolimerización con PEG de diferentes pesos moleculares pueden cambiar la temperatura de transición vítrea y el punto de fusión. Este efecto plastificante es la base de sus propiedades mecánicas.

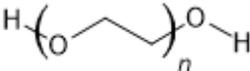
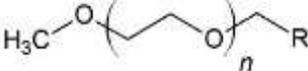
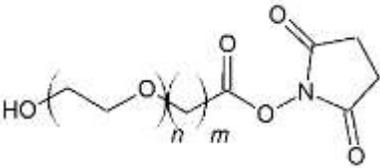
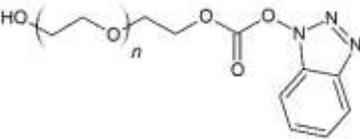
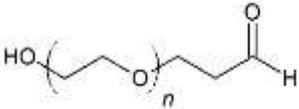
La temperatura de transición vítrea para PEGs de 4000, 6000 y 20,000 Da es de -34.6 °C, -22.7 °C y -22.37 °C con punto de fusión de 67.7 °C, 58.7 °C y 51.6 °C, respectivamente. Los puntos de fusión de PEG son cruciales en mezclas preparadas mediante extrusión por fusión en caliente. Además, exhiben una baja estabilidad química y radioquímica lo cual permite una ingeniería funcional variada.

La alta polaridad de PEG incrementa su hidrofiliidad y por lo tanto mejora su solubilidad en agua. La alta solubilidad del PEG también es observada en muchos solventes orgánicos e inorgánicos y forma una capa en la interfase de agua-aire. Son eléctricamente neutros a cualquier pH y también son inertes en los ambientes biológicos con una baja adsorción de proteínas, baja activación de células y adhesión, bajo consumo celular y un grado despreciable de inflamación (D'souza & Shegokar 2016).

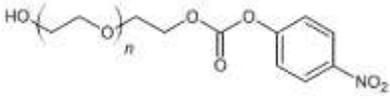
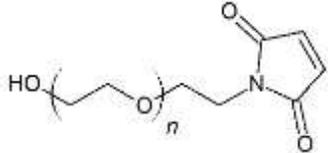
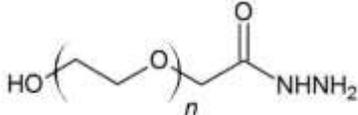
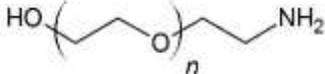
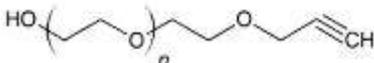
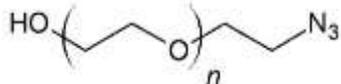
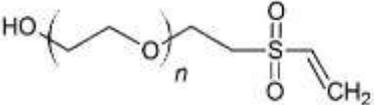
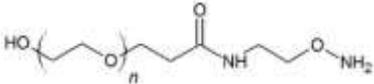
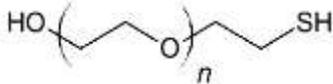
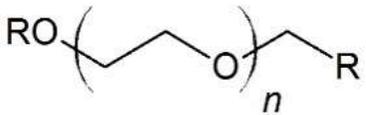
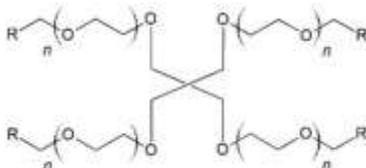
## 1.2. Tipos

Las estructuras químicas de los derivados de PEG se muestran en la tabla 1 (D'souza & Shegokar 2016).

**Tabla 1.** Estructura química del polietilenglicol y sus derivados.

PEG		
$(C_2H_4O)_{n+1}H_2O$ Fórmula química	 Estructura química	 Metoxi PEG (mPEG)
Derivados de PEG		
 PEG-NHS éster	 PEG-Carbonato de benzotriazol	 PEG-Hidrazida

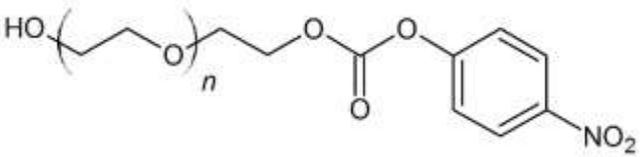
**Tabla 1.** Estructura química del polietilenglicol y sus derivados (Continuación).

Derivados de PEG		
		
PEG-p-nitrofenilcarbonato	PEG-maleimida	PEG-hidrazida
		
PEG-amina	PEG-alquino	PEG-azida
		
PEG-vinil sulfona	PEG-aminoxi	PEG-tiol
		
PEG bifuncional	PEG tetrafuncional	

\*n indica el número de grupos de oxietileno

Los PEGs comúnmente disponibles con varias formas y agentes de funcionalización se encuentran resumidos en la Tabla 2.

**Tabla 2.** PEGs con varias formas y agentes de funcionalización (Poovi y Damodharan 2018).

PEGs con varias formas y agentes de funcionalización	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PEG lineal monofuncional activado</li> <li>• Derivados de PEG lineal monofuncional activado</li> </ul> <p>Los derivados de PEG lineal monofuncional activado tienen un grupo reactivo al final de la cadena de PEG. En el otro extremo se encuentra un grupo metoxi o un azúcar.</p>	 <p>PEG p-nitrofenil carbonato</p>

**Tabla 2.** PEGs con varias formas y agentes de funcionalización (Continuación) (Poovi y Damodharan 2018).

PEGs con varias formas y agentes de funcionalización	
<i>PEG multi brazos activado</i>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PEG bifuncional</li> </ul>	$X-(OCH_2CH_2)_n-O-X$
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PEG de 4 brazos funcional</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PEG de 8 brazos funcional</li> </ul>	$  \begin{array}{c}  X-(OCH_2CH_2)_n-O-CH_2 \\    \\  HC-O-(CH_2CH_2O)_n-X \\    \\  CH_2 \\    \\  O \\    \\  CH_2 \\    \\  HC-O-(CH_2CH_2O)_n-X \\    \\  CH_2 \\    \\  O \\    \\  CH_2 \\    \\  HC-O-(CH_2CH_2O)_n-X \\    \\  H_2C-O-(CH_2CH_2O)_n-X  \end{array}  $
<p><i>Derivados de PEG ramificados para pegilación</i></p> <p>Los derivados de PEG ramificados, también conocidos como derivados de PEG “en forma de Y”, contienen dos cadenas lineares de metoxi PEG unidas a un núcleo central. La estructura estéricamente voluminosa de estos derivados facilita la unión de un solo punto de las moléculas modificadas.</p>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PEG de dos ramificaciones</li> </ul>	$  \begin{array}{l}  \text{O-Grupo funcional} \\    \\  O(CH_2CH_2O)_n-CH_3 \\    \\  O(CH_2CH_2O)_n-CH_3  \end{array}  $
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PEG bifurcado activado</li> </ul>	<p style="color: red; text-align: center;">X: Molécula bioactiva</p>

**Tabla 2.** PEGs con varias formas y agentes de funcionalización (Continuación) (Poovi y Damodharan 2018).

PEGs con varias formas y agentes de funcionalización	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• PEG heterofuncional</li> </ul> <p>Los PEGs activados de tipo hetero se pueden conjugar con diferentes moléculas. También son útiles para la modificación de superficies.</p>	$X-(OCH_2CH_2)-Y$
Derivados de PEG homobifuncionales	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Copolímeros en forma de peine</li> </ul> <p>Cuando estos polímeros son utilizados para la modificación de enzimas, se requiere menor afinidad de unión para introducir más cadenas de PEG a la superficie de la enzima en comparación con un solo PEG.</p>	

### 1.3. Aplicaciones

El PEG tiene muchas propiedades químicas que lo hacen especialmente útil en escenarios biológicos, químicos y farmacéuticos por ejemplo, como polímero biodegradable en matrices de sistemas de liberación controlada, en bases de ungüentos, base de supositorios, agente de suspensión, estabilizante de emulsiones, plastificante en cápsulas de gelatina blanda, mejora la eficacia de aglutinantes en tabletas, confiere plasticidad a gránulos, es usado en granulaciones termoplásticas, mejora la solubilidad en medios acuosos o la disolución de compuestos con baja solubilidad, plastificante en productos micro encapsulados, lubricante, antiadherente y en preparaciones para inhalación para mejorar la aerosolización. Debido a sus propiedades no tóxicas y no inmunogénicas puede ser agregado a medios, unirse a superficies o conjugarse con moléculas sin interferir en las funciones celulares o en la inmunogenicidad (Poovi & Damodharan, 2018).

La capacidad de unir una variedad de grupos funcionales a los sitios terminales de los PEG ha ampliado considerablemente sus beneficios. Los derivados hetero y homobifuncionales de PEG son especialmente adecuados como agentes de reticulación o como espaciadores entre dos entidades químicas, por otro lado los PEGs monofuncionales previenen las reacciones en puente que pueden afectar la pegilación de ciertos compuestos con PEGs bifuncionales (Hutano, 2014). Para tener aplicaciones farmacéuticas uno de los prerrequisitos es tener un índice de polidispersidad (PDI) bajo, este índice indica la calidad respecto al tamaño de distribución. Un valor de PDI debajo de 1.1 proporciona un polímero con una homogeneidad aceptable para garantizar la reproducibilidad en términos de tiempo de residencia corporal e inmunogenicidad del sistema portador.

Esta demanda la cumple por completo el PEG, ya que los polímeros bien definidos con un PDI alrededor de 1.01 son fácilmente accesibles por la polimerización aniónica de óxido de etileno. Se debe tomar en cuenta que no todos los polímeros hidrofílicos no iónicos pueden proveer un comportamiento sigiloso ya que numerosos parámetros estructurales influyen en los efectos biológicos y estabilizantes.

La masa molar al igual que la polidispersidad del polímero han demostrado ser importantes para la biocompatibilidad y el comportamiento sigiloso. La masa molar de PEG usado en aplicaciones farmacéuticas y medicas es de un rango de 400 Da a 50 kDa.

Los PEG con una masa molar de 20 kDa a 50 kDa son usados para la conjugación de fármacos de bajo peso molecular como moléculas pequeñas, oligonucleótidos y siRNA, el resultado de esto es la abolición del aclaramiento renal rápido por el incremento del tamaño de los conjugados sobre el límite de aclaramiento renal.

PEGs con masa molar de 1 kDa a 5 kDa frecuentemente son usados para la conjugación de fármacos más grandes como anticuerpos o sistemas de nanoparticulados, de esta manera la opsonización y subsecuente eliminación por el sistema del retículo endotelial se evade, la degradación enzimática se ve reducida y las cargas catiónicas son escondidas. PEGs de 3 kDa a 4 kDa se administran oralmente como laxantes (Knop et al., 2010).

Las aplicaciones aprobadas de los PEGs por la FDA en preparaciones farmacéuticas se presentan en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Lista de preparaciones basado en los diferentes grados de PEG y sus rutas de administración (D'souza & Shegokar 2016).

PEG (PM)	Ruta de administración	Límites	Forma de dosificación
<i>Administración parenteral</i>			
PEG 200	Intramuscular	30%	Inyección
PEG 300	Intravenosa	50 – 65%	Inyección
PEG 400	Intravenosa	11.25 – 36 %	Inyección, infusión
PEG 600	Intravenosa	5%	Solución inyectable
PEG 3350	Intralesional, intramuscular, intrasinovial	Mayor a 3%	Inyección
PEG 3350	Subcutánea	2.875%	Suspensión
PEG 4000	Intramuscular, intraarticular, Intralesional, intrasinovial	3%	Inyección y suspensión
<i>Administración peroral</i>			
PEG 200	Oral	20%	Solución
PEG 300	Oral	1 – 1.15 mg	Tableta

**Tabla 3.** Lista de preparaciones basado en los diferentes grados de PEG y sus rutas de administración (Continuación) (D'souza & Shegokar 2016).

PEG (PM)	Ruta de administración	Límites	Forma de dosificación
PEG 400	Oral	Mas de 984.8 mg	Cápsula, films, tabletas
PEG 400	Oral	60%	Concentrado, solución
PEG 400	Oral	5%	Suspensión
PEG 600	Oral	Más de 580.6 mg	Cápsulas, tabletas
PEG 600	Oral	13%	Solución
PEG 800	Oral	3.48 mg	Tableta
PEG 1000	Oral	10%, 20 %, más de 1.5197 mg	Concentrado, solución, tabletas
PEG 1450	Oral	17 mg	Capsula, tableta
PEG 1450	Oral	20%	Solución
PEG 1500	Oral	1.2 mg	Tableta
PEG 3000	Oral	2.302 mg	Tableta
PEG 3350	Oral	288 mg, más de 4.5%	Capsula, tableta
PEG 3500	Oral	3.048 mg	Tableta
PEG 4000	Oral	380.5 mg	Capsula, tableta
PEG 4000	Sublingual	2.5 mg	Tableta
PEG 4500	Oral	10 mg	Capsula, tableta
PEG 6000	Oral	450 mg	Capsula, tableta
PEG 6000	Sublingual, bucal	70 mg	Tableta
PEG 8000	Oral	27.8 mg – 167.6 mg	Capsula, tableta
PEG 20,000	Oral	18 mg	Capsula, tableta
<i>Aplicación tópica</i>			
PEG 200	Tópica	39%	Ungüento
PEG 300	Tópica	29.7 – 57%	Ungüento, solución
PEG 400	Tópica	7.5 – 69.9%	Emulsión, crema, loción en gel, solución, ungüento
PEG 540	Tópica	76.5%	Ungüento
PEG 600	Tópica	0.3%	Solución
PEG 900	Tópica	0.95%	Solución
PEG 1000	Tópica	7.2%	Emulsión en crema
PEG 1000	Transdérmica	0.5%	Gel
PEG 1450	Tópica	40.8%	Ungüento
PEG 1500	Tópica	5%	Ungüento
PEG 1540	Tópica	29.7%	Solución
PEG 1540	Dental	5%	Gel
PEG 3350	Tópica	40%	Ungüento
PEG 4000	Tópica	84%	Ungüento
PEG 6000	Tópica	1%	Ungüento

**Tabla 3.** Lista de preparaciones basado en los diferentes grados de PEG y sus rutas de administración (Continuación) (D'souza & Shegokar 2016).

PEG (PM)	Ruta de administración	Límites	Forma de dosificación
PEG 8000	Tópica	4 – 11%	Crema. emulsión
<i>Otras rutas de administración</i>			
PEG 400	Oftálmica	4.997%	Ungüento
PEG 8000	Oftálmica	2%	Solución
PEG 1000	Rectal	1658 mg	Supositorio
PEG 3350	Rectal	1425.96 mg	Supositorio
PEG 4000	Rectal	1269 mg	Supositorio
PEG 6000	Rectal	128 mg	Supositorio
PEG 8000	Rectal	52 mg	Supositorio
PEG 400	Nasal	20%	Spray dosificado
PEG 1000	Inhalable	0.0224%	Aerosol (dosificado)
PEG 3350	Nasal	1.5%	Spray (dosificado)
PEG 1000	Vaginal	-	Supositorio
PEG 1450	Uretral	9.75 mg	Supositorio
PEG 4000	Vaginal	0.5%	Emulsión en crema
PEG 6000	Vaginal	132.66 mg	Tableta
PEG 8000	Vaginal	3 mg	Tableta

### 1.3.1. Solubilizantes

Los fármacos y entidades químicas nuevas clase 2 y 4 del sistema de clasificación biofarmacéutica exhiben una pobre biodisponibilidad debido a su poca solubilidad acuosa. Para mejorar su solubilidad y permeación existen muchas técnicas incluyendo modificaciones físicas/químicas, reducción del tamaño de partícula, formación de nanoemulsiones, complejos con ciclodextrinas, sistemas de liberación de fármacos con auto emulsificación y solubilización micelar con solubilizantes y surfactantes. De las técnicas mencionadas anteriormente, la reducción de tamaño, inclusión de complejos, y los sistemas de liberación de fármacos auto emulsificantes y nanoemulsiones requieren conocimientos técnicos, concentraciones correctas de materias primas además de la alta inversión. La solubilización mediante la reducción de la tensión superficial usando saponinas, detergentes y surfactantes es relativamente barato y requiere mínimos conocimientos técnicos. Sin embargo, estas técnicas están limitadas por su potencial hemolítico más allá de una concentración particular y la estabilidad de estas formulaciones es también un problema.

La alta polaridad del PEG incrementa la hidrofiliidad e interacciones hidrofóbicas con fármacos hidrofóbicos, lo cual es una importante propiedad para la solubilización.

Los PEGs líquidos (PEG de 200 a 600 Da) pueden ser usados como solubilizantes miscibles en agua en orales líquidos y parenterales. Los PEGs de alto peso molecular son usados generalmente para la microencapsulación de sustancias activas y su uso minimiza el uso de solventes fuertes que se requieren durante la encapsulación.

Generalmente los PEGs con peso molecular mayor a 1000 Da son utilizados como agentes de suspensión y estabilizadores de emulsiones en combinación con otros estabilizadores (D'souza & Shegokar 2016).

### 1.3.2. Potenciador de la permeación

El PEG exhibe una pobre penetración a través de la piel debido al impedimento estérico brindado por las moléculas de agua adsorbidas y no irrita la piel. Aunque, la piel con una barrera comprometida o quemaduras incrementa la penetración del PEG independientemente del peso molecular y puede desarrollar acidosis debido a sus metabolitos. Los surfactantes/emulsificantes de PEG no iónicos y éteres de PEG pueden influir en la función de la barrera. Los PEGs no permeables son la base preferida para parches transdérmicos ya que pueden ser removidos de la piel fácilmente, mientras que los PEGs en estado sólido, debido a las propiedades mencionadas, son utilizados en lociones, ungüentos y bases de supositorios (D'souza & Shegokar 2016).

### 1.3.3. Efecto de prolongación en el sistema circulatorio

El sistema fagocítico mononuclear (SFM) rápidamente reconoce y fagocita cualquier material hidrofóbico, nanopartículas, fármacos, proteínas, genes, etc., desde el sistema circulatorio. Las propiedades fisicoquímicas como la hidrofiliidad, tamaño, la química y carga de la superficie influyen en la adsorción de proteínas sobre la superficie del material y en su destino en el cuerpo. Las proteínas sistémicas, especialmente las opsoninas, interactúan con las partículas y las hacen reconocibles para el SFM lo cual facilita su fagocitosis.

Las cadenas ancladas de PEG forman fácilmente una capa hidrofílica encapsulando el núcleo hidrofóbico. La hidrofiliidad se puede determinar mediante el ángulo de contacto, los materiales que son hidrofílicos disminuyen el ángulo de contacto del material hidrofóbico. La modificación de la superficie de materiales hidrofóbicos con PEG ofrece una barrera estérica hidrofílica hidratada, manteniendo las moléculas de agua. El grado de resistencia variara de acuerdo con el peso molecular, tamaño de partícula y estructura del PEG. En ambientes acuosos el PEG puede adquirir diferentes conformaciones y formar puentes de hidrógeno. Se ha determinado que en las cadenas de PEG hay sitios disponibles en los que se pueden unir moléculas de agua. La mayoría de las moléculas de agua se unen firmemente, mientras que algunas se retienen libremente provocando una hidratación completa. Cuando

se saturan por completo los lugares a los que se unen las moléculas de agua, las moléculas extra de agua que quedan disponibles ayudan a la hinchazón de la matriz formando un revestimiento. Estas moléculas de agua que se encuentran retenidas por el PEG, en su interfaz poseen un momento dipolo generando fuerzas repulsivas entre el PEG y las proteínas del suero. La coordinación de moléculas de agua con el PEG (6 a 7 unidades de monómero) resulta en un volumen hidrodinámico incrementado del PEG comparado a otra proteína con un peso molecular similar y este volumen hidrodinámico aumenta conforme al peso molecular. El PEG de 40,000 Da presenta un volumen hidrodinámico equivalente al de una proteína de 670,000 Da (D'souza & Shegokar 2016).

#### 1.3.4. Modificador de la liberación

Los fármacos que se encuentran atrapados en las matrices de PEG son liberadas mediante difusión, mediante un mecanismo de erosión controlada o una combinación de ambos. El agua penetra a través de la matriz hasta llegar al núcleo donde disuelve el fármaco y se libera por difusión.

La liberación del fármaco que está unido al PEG dependerá del tipo de unión entre el fármaco y el polímero, ya sea permanente o liberable.

La unión permanente al PEG es una nueva molécula con propiedades mejoradas. Aunque la pegilación con PEG de alto peso molecular incrementa la solubilidad en agua y la vida media, la unión a PEG de alto peso molecular genera un obstáculo estérico al bloquear la bioactividad en el sitio de acción.

La unión liberable al PEG es similar a los profármacos, donde la pegilación de los conjugados activos mediante enlazadores hidrolizables pueden liberar el activo después de estimulación química, enzimática o térmica en el medio biológico.

En este sentido, el PEG ha sido muy utilizado para la formación de hidrogeles que son un tipo de acarreadores estímulo sensibles los cuales son líquidos a temperatura ambiente y se transforman en gel una vez que es expuesto a la temperatura corporal. Los copolímeros basados en PEG experimentan cambios físicos reversibles inducidos por estímulos. Estos cambios ocurren principalmente en entrecruzamiento, arquitectura ordenada micelar, interacciones hidrofóbicas y electrostáticas, dominios microcristalinos, separación de fases y número de agregación (D'souza & Shegokar 2016).

#### 1.3.5. Aglutinante y plastificante

En formulaciones sólidas el uso de PEG de alto peso molecular (mayor a 1000 Da) puede mejorar la eficacia de los aglutinantes en tabletas y dan plasticidad a los gránulos y si se

añade en concentraciones mayores al 5% p/p en las formulaciones se puede prolongar la desintegración de las tabletas. Los PEG de bajo peso molecular que son líquidos a temperatura ambiente pueden ser usados directamente como plastificantes, los PEGs que se encuentran en estado sólido también pueden ser utilizados como plastificantes, pero deben calentarse o encontrarse en un solvente para usarse en estado líquido.

Para films de recubrimiento se utilizan PEGs con peso molecular mayor a 1000 Da en estado sólido los cuales proveen una superficie hidrofílica en combinación con otros polímeros formadores de film y tienen un efecto plastificante que evita la ruptura de los films. El uso de PEGs en films de recubrimiento confieren un 4% del peso total de la tableta.

PEG 6000 derretido es usado en granulaciones termoplásticas para formar una masa tipo pasta que forma gránulos si se agita en enfriamiento. Esta técnica es usada para formas farmacéuticas que requieren un tiempo de desintegración prolongado, también es utilizado como solvente para granulación sustituyendo agua y alcohol.

Los PEGs líquidos de 200 a 600 Da son usados como solventes miscibles en agua en cápsulas de gelatina suaves como un plastificante (D'souza & Shegokar 2016).

## 2. Pegilación

La pegilación es el proceso de unir moléculas de polietilenglicol, ya sea de manera covalente o no covalente, a moléculas que van desde fármacos a macromoléculas como proteínas, acarreadores macromoleculares, oligonucleótidos o vesículas para mejorar las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de los fármacos, tales como aumentar el tiempo de vida media sin alterar la actividad terapéutica, la protección de degradación enzimática y evitar un aclaramiento renal rápido.

Debido a las características de las cadenas de PEG como su neutralidad, flexibilidad e hidrofiliidad, inducen cambios positivos en la interacción de las moléculas como generar capas de barreras sobre la superficie minimizando la interacción entre las opsoninas presentes en la sangre y los materiales extraños, de esta manera ayuda a disminuir los efectos adversos inmunológicos haciéndolos invisibles para los fagocitos. A este efecto se le conoce como sigilo de las cadenas de PEG (Abbina & Parambath 2018).

Dos propiedades clave de este polímero son su gran flexibilidad, debido a la ausencia de sustituyentes voluminosos a lo largo de la cadena, y la alta hidratación del polímero. El PEG es único en su comportamiento con el agua por su gran solubilidad que contrasta con la hidrofobicidad de otros polímeros similares, además también es soluble en muchos solventes orgánicos y puede formar finas monocapas en la interfase aire-agua, una

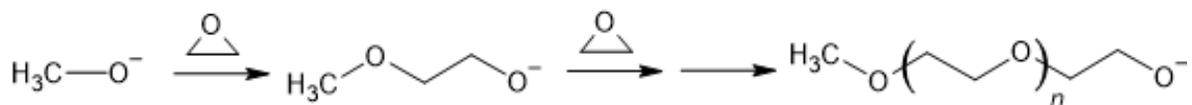
propiedad típica de moléculas anfifílicas. Muchas de estas propiedades pueden variar de acuerdo con su peso molecular y, en menor extensión, con su concentración.

Bajo circunstancias normales los PEG de bajo peso molecular promueven atracción (agregación de células/vesículas) mientras que los PEGs de alto peso molecular inducen fuerzas de repulsión (estabilización de la dispersión de células/vesículas) (Pasut & Veronese 2012).

## 2.1. Implicaciones químicas y biológicas

### *Implicaciones químicas*

Para prevenir entrecruzamientos no deseados durante la conjugación del PEG con las moléculas se suele cubrir uno de los extremos del polímero con un grupo metoxilo dando como resultado metoxi polietilenglicol (mPEG). Este polímero sintético es producido mediante una polimerización aniónica de óxido de etileno iniciada por un ataque nucleofílico de un ion metoxilo sobre el anillo de epóxido (Figura 2), y es también soluble en agua y solventes orgánicos.



**Figura 2.** Mecanismo de síntesis de mPEG mediante polimerización aniónica.

El mPEG ha sido utilizado en productos pegilados aprobados, contiene hasta un 15% de PEG diol como impureza, el cual debe ser removido para asegurar la síntesis de un derivado de PEG monofuncional.

El mPEG comercial normalmente tiene una baja polidispersidad, que es una medida de la heterogeneidad del tamaño de las moléculas de PEG, con un valor en un rango de 1.01 para PEGs de bajo peso molecular (<5 kDa) a 1.1 para PEGs de alto peso molecular (>50 kDa).

Actualmente muchas moléculas derivadas de PEG que se encuentran disponibles varían en peso molecular y estructura, como la lineal, ramificada, dendrimeros de PEG y los más recientes PEGs multibrazos. De esta manera el proceso de pegilación puede ser extendido a liposomas, péptidos, carbohidratos, enzimas, fragmentos de anticuerpos, nucleótidos, moléculas orgánicas pequeñas e incluso diferentes formulaciones de nanopartículas.

Para los productos que se encuentran en el mercado son utilizados principalmente los PEGs lineares y ramificados. Los PEGs ramificados contienen dos moléculas de PEG unidas a un

núcleo central, del cual se extiende una molécula reactiva anclada la cual se unirá al fármaco. La conjugación con la cadena ramificada de PEG resulta en productos con mayor densidad de PEG por sitio modificado. Los agentes ramificados o multibrazos son ventajosos si el objetivo es un producto monopegilado.

Los PEGs monofuncionales son utilizados para la pegilación de proteínas con un grupo funcional unido a un extremo del polímero de PEG permitiendo la reacción con el extremo N-terminal.

Las técnicas de conjugación pueden ser clasificadas en dos categorías: i) pegilación aleatoria de primera generación, y ii) Pegilación en sitios específicos de segunda generación, gracias al proceso de pegilación de segunda generación se pueden obtener productos con un mejor perfil en comparación con los obtenidos mediante una pegilación no específica.

El conjugar PEG de manera irreversible puede generar algunos efectos adversos en la actividad biológica de muchas moléculas terapéuticas. Por lo tanto, para minimizar la pérdida de actividad se puede realizar una pegilación reversible.

Un producto comercial puede consistir en múltiples isómeros y cada uno tendrá diferentes efectos farmacológicos, toxicológicos y actividad inmunogénica. Las principales impurezas en el conjugado final que deben ser minimizadas son la molécula nativa no pegilada y moléculas conjugadas con un mayor número de PEGs de lo deseado.

La literatura general de patentes revela alguna información acerca de los métodos de síntesis, pero el esquema final utilizado en la fabricación de acuerdo con las Buenas Prácticas de Fabricación de reactivos PEG, el cual incluye métodos de purificación para reducir o remover impurezas, son específicas para cada medicamento en particular (Mishra, Nayak, & Dey 2016; Turecek et al. 2016).

### *Implicaciones biológicas*

En el caso de los PEGs, el peso molecular comúnmente determina su destino y vida media. La absorción del PEG a través del tracto gastrointestinal y piel disminuye conforme el peso molecular incrementa. El aclaramiento renal se ve reducido en PEG 20,000 – PEG 50,000. La excreción biliar se observa para PEG mayores a 50,000 Da atribuido a su incremento de volumen hidrodinámico.

El PEG es metabolizado mediante la oxidación de su grupo alcohol para formar ácido carboxílico, diácidos y metabolitos del ácido hidroxílico en presencia de la enzima catalizadora deshidrogenasa. Una excesiva formación de estos metabolitos ácidos puede

causar acidosis e hipercalcemia. PEGs de peso molecular alto sufre un aclaramiento renal fácil por lo que posee una baja toxicidad y un alto perfil de biotolerabilidad (D'souza & Shegokar 2016).

En los inicios de la química del PEG, a finales de los años 70, el profesor Frank Davis y sus colegas demostraron que las propiedades inmunológicas, así como la estabilidad de la albúmina en suero bovino y catalasa del hígado bovino pueden ser alterados de manera satisfactoria mediante el ligamento covalente a metoxipolietilenglicol (mPEG) usando cloruro cianúrico como una agente activante, este derivado de PEG es más útil para las modificaciones de polipéptidos (Mishra, Nayak, y Dey 2016).

### *Toxicología*

La toxicología del PEG y de los sistemas de liberación de fármacos ha sido evaluada de manera intensiva. Para realizar las pruebas de toxicidad se han seleccionado como modelos animales a conejos y ratas, la mayoría de los estudios toxicológicos se han llevado a cabo de manera oral y han demostrado una toxicidad únicamente a dosis altas. Después de una sola dosis administrada, no se encontró toxicidad severa en los animales y, más importante, no hay evidencia sólida que demuestre una correlación entre la toxicidad y el peso molecular del PEG. Por ejemplo, PEG-200, 300, 400, 600 y 4 kDa tienen una  $DL_{50}$  similar en ratón de  $\sim 10$  g/kg mientras que específicamente PEG-1000, 6000 y 9000 tienen una  $DL_{50}$  entre 3 g/kg y 6 g/kg. En ratas no hubo signos de toxicidad cuando se les administró PEG-200, 400 y 600 y hubo una ligera toxicidad en ratas después de una administración inyectada de PEG-300, 4000 y 6000 con una  $DL_{50}$  alrededor de 10 g/kg. En modelos de conejos, la toxicidad aguda del PEG-750 mostró una  $DL_{50}$  de 10 000 mg/kg con hinchazón tubular renal. La toxicidad crónica del PEG-200, 300, 400, 1000, 1500, 3000 y 7000 en conejos tuvieron un efecto en el hígado con dosis de 350 mg/kg/día por cinco semanas. Los estudios a corto y largo plazo de mutagenicidad, test teratogénicos en ratas, y ensayos clínicos en humanos han demostrado que la administración oral y no oral de PEG es segura. De cualquier manera, se reportó que la ventana de dosificación en humanos es aproximadamente 600 veces más alta comparado con animales, los estudios en estos últimos demostraron que la toxicidad raramente existe en humanos. Especialmente en las pruebas a dosis altas, los resultados patológicos indicaron que no hay déficit funcional y el PEG y los sistemas de liberación de fármacos pegilados, como liposomas y polimerosomas han sido visualizados con una funcionalidad activa.

Además, no hay evidencia que demuestre que los sistemas de liberación de fármacos tengan una alta toxicidad debido a la aplicación de PEG en ellos. Aunque la selección de diferentes pesos moleculares de PEG pueden influir en la excreción y la farmacocinética de los sistemas

de liberación de fármacos pegilados, no se ha reportado una relación con su toxicidad (Liu et al. 2016; D'souza and Shegokar 2016).

## 2.2. Inconvenientes

A pesar de que el concepto de pegilación es simple y efectivo en la mayoría de los casos, recientemente varios posibles problemas de seguridad surgieron del uso repetido de productos relacionados con PEG. Varios reportes demostraron que los productos pegilados pueden causar respuesta inmunológica (en administración oral e intravenosa), hipersensibilidad, vacuolación citoplasmática, aclaramiento acelerado de la sangre y generación de anticuerpos bajo ciertas condiciones. Además de esto, el PEG no es biodegradable y el PEG de alto peso molecular ha mostrado una acumulación significativa en tejido. A pesar de que los PEGs de bajo peso molecular son preferidos para usarse en diferentes aplicaciones biomédicas, los productos de oxidación de los oligómeros de menor peso molecular han mostrado efectos secundarios tóxicos. El PEG sufre degradación bajo condiciones de estrés exógenas tales como calor, radiación o fuerzas mecánicas. Esto influye en las formulaciones de medicamentos y el almacenamiento de PEGs.

Algunos pocos reportes también sugieren que la pegilación de proteínas reduce su afinidad de unión, así como su actividad biológica debido a la naturaleza cerosa de soluciones concentradas y la polidispersidad inherente de PEG activado y sus derivados que se encuentran comercialmente disponibles pueden generar complicaciones en el análisis de los productos (Abbina & Parambath, 2018).

## 3. Pegilación de fármacos

Teóricamente, la pegilación puede ser usada para dirigir cualquier molécula activa, pero es usualmente aplicado a macromoléculas, tales como péptidos, proteínas, oligonucleótidos y moléculas orgánicas pequeñas que tienen un fin terapéutico.

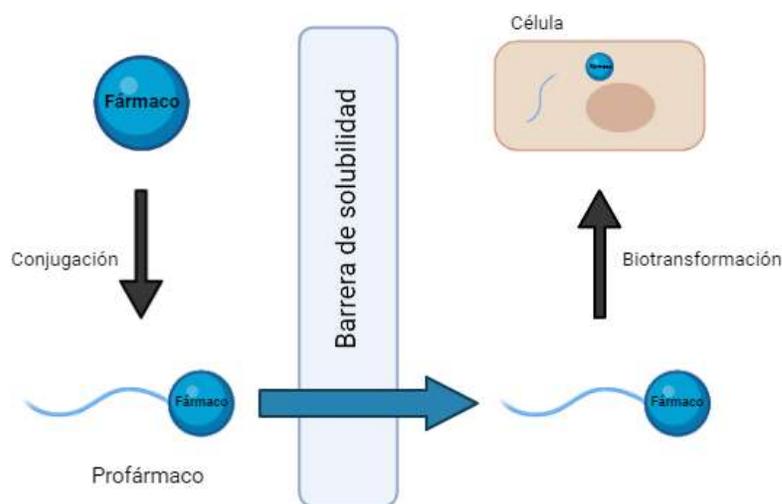
Para dar un uso más efectivo de los fármacos se han adoptado diversos enfoques y, en particular, la pegilación provee muchos beneficios derivado de la unión del polietilenglicol a especies bioactivas.

Cuando el PEG es unido a la superficie de una proteína, el incremento de tamaño que resulta de eso permite reducir el aclaramiento renal e incrementa su estabilidad ya que mejora la resistencia a proteólisis, lo cual prolonga el tiempo de circulación.

Este proceso también reduce la inmunogenicidad, antigenicidad y toxicidad del fármaco y provee beneficios adicionales al minimizar la pérdida de volumen de inyección debido a la adsorción en los sitios de inyección y mejorando la solubilidad. Se ha reportado que un gran

número de conjugados de PEG son más eficientes y estables que las moléculas nativas, por este motivo muchos conjugados han alcanzado el mercado como productos comerciales. Adicionalmente, la pegilación también ofrece ventajas comerciales, porque transforma las moléculas a su equivalente pegilado, y así reduce la amenaza que presentan los biosimilares (Kang, DeLuca, y Lee 2009; Knop et al. 2010).

La mayoría de los profármacos basados en PEG han sido desarrollados para la liberación de agentes anticancerígenos como paclitaxel, metotrexato y cisplatino. Los profármacos de alto peso molecular que contienen componentes citotóxicos han sido desarrollados para disminuir los efectos secundarios y para obtener una administración más específica del fármaco en los tejidos cancerosos. Al diseñarlos, se espera que un profármaco macromolecular antitumoral sea estable en circulación y que solo se degrade después de llegar a la célula o tejido blanco. El conjugado de PEG-fármaco puede ser adaptado para que se active por enzimas extra o intracelulares liberando el fármaco *in situ* (Figura 3).



**Figura 3.** Ilustración esquemática del concepto de profármaco.

En general, los compuestos de bajo peso molecular se difunden en tejidos normales o tumoral a través del endotelio de la capa celular de los capilares. La conjugación de fármacos de bajo peso molecular con acarreadores poliméricos de alto peso molecular resulta en profármacos de alto peso molecular. Sin embargo, esta conjugación altera sustancialmente el mecanismo de internalización celular y acumulación. Los fármacos de alto peso molecular son internalizados mediante endocitosis, lo cual es un proceso de internalización más lento que la difusión simple. Por lo tanto, en el caso de endocitosis se requiere una mayor concentración de fármaco fuera de la célula para producir el mismo efecto celular que el correspondiente a fármacos de bajo peso molecular. Los profármacos

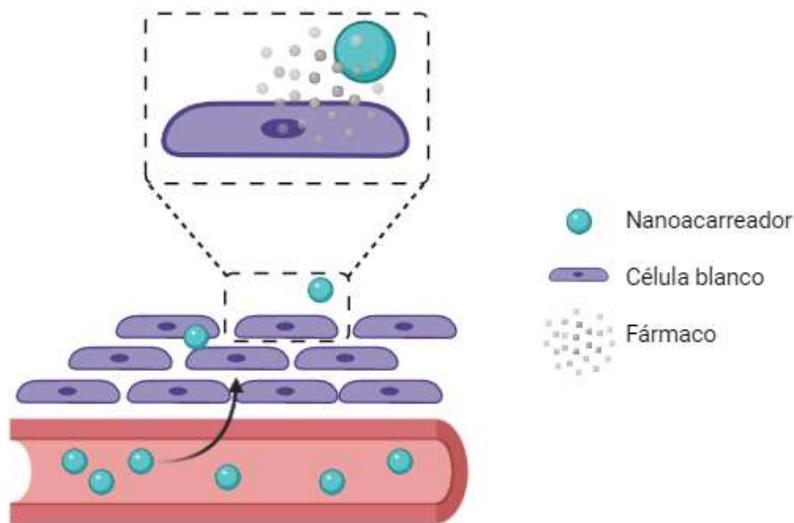
de alto peso molecular poseen una actividad específica baja comparado con la forma libre de los fármacos. Por ejemplo, profármacos anticancerígenos poliméricos son generalmente menos tóxicos que cuando se encuentran de forma libre, pero requieren concentraciones más altas dentro del tumor para ser citotóxico. Puede compensarse el decremento en la eficacia del fármaco mediante la orientación del fármaco polimérico a órganos, tejidos y/o células específicas.

Siguiendo dos enfoques las maneras generalmente usadas para orientar fármacos anticancerígenos poliméricos a tumores o células cancerosas son la orientación pasiva y la orientación activa (Banerjee et al., 2012).

#### *Orientación pasiva*

La orientación pasiva es un efecto del sistema de liberación en el que el fármaco conjugado con un polímero que lo libera y es entregado fuera del sitio blanco debido a condiciones ambientales alteradas. Los tumores y otras muchas áreas inflamadas en el cuerpo tienen vasculatura hiperpermeable y un pobre drenaje linfático que provee una retención de macromoléculas dentro del tumor y áreas inflamadas. Este fenómeno es llamado efecto de mayor permeabilidad y retención (EPR) que constituye una de las estrategias de acarreadores de fármacos anticancerígenos. El EPR es un efecto usado primariamente para la orientación pasiva debido a la acumulación del profármaco dentro del tumor o área inflamada. Los fármacos de bajo peso molecular acoplados covalentemente con acarreadores de alto peso molecular son eliminados de manera ineficiente debido al drenaje linfático obstaculizado y por lo tanto se acumula en los tumores. Mientras que el efecto EPR mejora la habilidad de la orientación pasiva debido a su alto grado de acumulación del fármaco en el tumor y subsecuentemente por su acumulación, el profármaco libera lentamente las moléculas de fármaco lo cual provee una alta biodisponibilidad y una baja toxicidad sistémica.

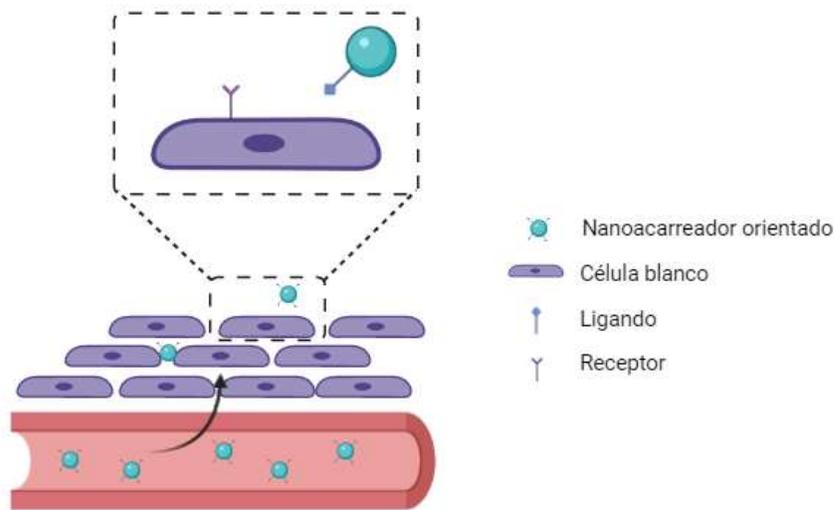
La orientación pasiva aumenta la concentración del conjugado en el ambiente del tumor y por lo tanto fuerza “pasivamente” al fármaco polimérico a entrar a la célula, por medio del gradiente de concentración, entre los espacios intracelulares y extracelulares y por esto no es muy eficiente. La manera más eficiente de la orientación es mediante la orientación activa (Banerjee et al., 2012).



**Figura 4.** Mecanismo de liberación de fármaco mediante orientación pasiva.

*Orientación activa*

La orientación activa está basada en la interacción entre dos pares biológicos (por ejemplo, ligando y receptor, antígeno y anticuerpo, enzima y sustrato) (Figura 4). La orientación activa se logra mediante la unión de agentes orientadores que se acoplan a receptores específicos en la superficie de la célula con el profármaco mediante una variedad de conjugaciones químicas. Las moléculas más usadas para la orientación son péptidos ligandos, residuos de azúcar, anticuerpos y aptámeros específicos para receptores particulares, selectinas, antígenos y mRNAs expresados en células o órganos blanco. La interacción de estas moléculas orientadoras con su molécula blanco resulta en el consumo del fármaco mediante dos vías: internalización del profármaco completo o internalización del fármaco a las células blanco por varias vías de endocitosis y fagocitosis (Banerjee et al., 2012).

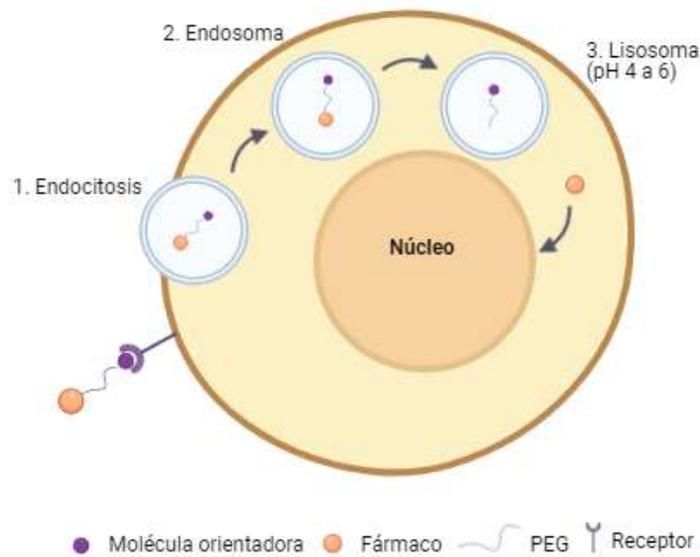


**Figura 5.** Mecanismo de liberación de fármaco mediante orientación activa.

### *Internalización del profármaco*

En este sistema, el fármaco se escinde intracelularmente después de la endocitosis. El profármaco internalizado exhibe actividad farmacológica al llegar al citosol o al núcleo, los cuales son los sitios de acción de fármacos intracelularmente activos. Este proceso puede ser dividido en varios pasos como se esquematiza en la Figura 6. La interacción del profármaco orientado con su receptor correspondiente inicia una endocitosis mediada por el receptor mediante la formación de una vesícula endocítica y vesículas de transporte limitados por la membrana de los endosomas con un sistema de liberación polimérico dentro.

La actividad del fármaco es preservada durante el transporte intracelular mientras que el endosoma recubierto por membrana previene de degradación por enzimas al fármaco. Si el conjugado fármaco-polímero es diseñado con la incorporación de una unión escindible enzimáticamente entonces el fármaco es liberado del conjugado fármaco-polímero por enzimas lisosomales y podría salir de un lisosoma por difusión. La ventaja es una alta concentración del fármaco localmente con un potencial incremento en su eficacia (Banerjee et al., 2012).



**Figura 6.** Mecanismo de internalización de un profármaco.

### *Internalización del fármaco*

En este sistema, el fármaco conjugado es escindido extracelularmente. Se ha reportado que el microambiente de los tumores es ligeramente ácido en modelos animales y pacientes humanos y el valor de pH en tejido de tumores es generalmente de 0.5 – 1.0 unidades más bajo que en tejido normal (Banerjee et al., 2012).

### 3.1. Historia

El concepto de pegilación fue introducido por primera vez a finales de los años 70, sin embargo, fue esta los años 90 en que alcanzó aplicaciones farmacéuticas.

La idea de conjugar PEG a una proteína fue propuesta por primera vez a finales de los años 60 por el profesor Frank Davis. Su propósito era hacer que las proteínas recombinantes fueran menos inmunogénicas en el cuerpo y mejorar el tiempo de circulación y de actividad.

El acoplamiento de una proteína al PEG fue reportada por primera vez en 1977 por Abuchowski en conjunto con su profesor Frank Davis, quienes demostraron en dos estudios que el conjugado de albúmina con PEG es no inmunógeno y el conjugado de catalasa de hígado con PEG aumentaba su circulación en sangre de 12 a 48 horas mientras mantenía su actividad de enzima. Continuaron publicando artículos acerca de la pegilación de proteínas y en 1981 fundaron la primera compañía de pegilación, llamada Enzon, para

producir y vender proteínas pegiladas a compañías farmacéuticas. Su primer producto aprobado fue PEG-adenosina desaminasa, aprobada en 1990. De hecho, su posición líder demuestra que la pegilación de moléculas es una herramienta bien establecida para el control de las limitaciones que pueden presentar los fármacos.

En 1992 Milton Harris fundó la segunda compañía de pegilación llamada Shearwater.

Después de que los estudios en animales demostrarán que la modificación de proteínas con su unión a PEG extiende su vida media en sangre y controla su inmunogenicidad se realizaron estudios y mejoras para la unión de PEG a otras moléculas, los cuales se encuentran resumidos en la Tabla 4 (Hoffman, 2016; Poovi & Damodharan, 2018).

**Tabla 4.** Historia de la pegilación (Poovi & Damodharan, 2018).

Década	PEGs	Observaciones generales	Aplicaciones
1970-1980	PEG-clorotriazina PEG-succinimidil succinato PEG-tresilato	Material de partida inmunogénico o tóxico, PEG altamente poli disperso, selectividad baja	Estudios de investigación, modificación de enzimas por biocatálisis
1980-1990	PEG-aldehído PEG-succinimidil carbonato PEG-pNO <sub>2</sub> fenil carbonato PEG-AA-NHS PEG-carbonilimidazol	Conjugación sitio específica, PEG menos poli disperso, ausencia de dioles	Terapia de reemplazo enzimático
1990-2000	PEG ramificado PEG-NHS PEG-maleimida PEG-OPSS	Selectividad mejorada, comercialización de fármacos pegilados	Citosinas, hormonas, orientación de fármacos anticancerígenos

**Tabla 4.** Historia de la pegilación (Continuación) (Poovi & Damodharan, 2018).

Década	PEGs	Observaciones generales	Aplicaciones
2000 en adelante	Acoplamiento enzimático Acoplamiento de disulfuro PEGs liberables PEGs bifurcados PEGs en forma de estrella PEGs mono dispersos	Caracterización química y biológica detallada de los conjugados, combinación de ingeniería genética y pegilación para el diseño de nuevos fármacos, requerimientos regulatorios más estrictos	Pegilación de fármacos (no proteínas), pegilación de oligonucleótidos y pegilación de células
AA = Aminoácidos; NHS = N-hidroxisuccinimida; OPSS = orto-piridildisulfuro.			

### 3.2. Ventajas

El uso de polímeros biodegradables en fármacos puede ser más benéfico ya que se evitarían las dificultades para lograr la excreción completa, aunque tendrían que considerarse otros problemas como la toxicidad de productos de degradación y el tiempo de vida limitado.

Algunas ventajas del PEG son su alta solubilidad en solventes orgánicos y en agua, la modificación de los grupos finales es relativamente fácil y una baja toxicidad intrínseca que hace que el polímero sea ideal para aplicaciones biológicas. Debe permanecer en mente que la excreción del PEG no depende directamente de la masa molar del polímero sino del volumen hidrodinámico afectado por la conformación del polímero. Por ejemplo, un polímero en forma de estrella y dendrítico muestran un bajo volumen hidrodinámico en comparación a los polímeros lineales con masa molar similar.

Cuando el PEG se une a fármacos o acarreadores hidrofóbicos la hidrofiliidad del PEG incrementa su solubilidad en medios acuosos. Esto provee fármacos con una mejor estabilidad física y térmica, que también reducen o previenen la agregación de fármacos *in vivo*, aumenta el tiempo de almacenamiento como resultado del impedimento estérico y/o el enmascaramiento de las cargas proporcionadas a través de la formación de una “nube conformacional” la cual es generada por la alta flexibilidad de las cadenas del polímero, que tienen un gran número de posibles conformaciones. Entre más alta es la tasa de transición de una conformación a otra, más alta es la existencia estadística del polímero como una

“nube conformacional” lo cual previene interacciones con los componentes de la sangre al igual que las interacciones con proteínas como degradación enzimática u opsonización. La formación de esta nube también dependerá de la masa molar del PEG, la densidad superficial, y la manera en la que el PEG se une a la superficie. La disminución de las interacciones con el cuerpo resulta en productos pegilados que muestran menos inmunogenicidad y antigenicidad, estas propiedades favorables del PEG en farmacocinética son conocidas bajo el nombre de efecto sigiloso (Knop et al., 2010).

En resumen, el PEG provee un volumen hidrodinámico a las moléculas conjugadas que reducen su excreción renal y prolongan el tiempo de vida media, protegen las secuencias de aminoácidos sensibles a degradación química, enmascara los sitios sensibles a degradación metabólica enzimática o que sean reconocibles por anticuerpos, posibilita la solubilización de proteínas en solventes orgánicos permitiendo nuevas aplicaciones de enzimas como biocatálisis, permite la solubilización de fármacos insolubles en medios fisiológicos, reduce la opsonización o la adhesión de proteínas a la superficie incrementando la biocompatibilidad, reduce la agregación de proteínas, además incrementando el peso molecular tiene numerosas ventajas farmacológicas como el reducir la frecuencia de dosificación sin disminuir su eficacia, incrementa la estabilidad del fármaco y puede generar nuevas oportunidades de sistemas de liberación de fármacos y nuevos regímenes de dosificación (Poovi & Damodharan 2018).

### 3.3. Mecanismos

Generalmente la pegilación de proteínas se logra después de la modificación de la polimerización de mPEG para prevenir el entrecruzamiento. Los grupos más comunes para el acoplamiento son los grupos amino terminales y los residuos de lisina. Sin embargo, debido a la prevalencia de lisina, la conjugación de primera generación genera pegilaciones no controladas resultando en mezclas heterogéneas. Los nuevos métodos de pegilación se basan en métodos precisos. En la actualidad, las estrategias de ligación química están disponibles para la conjugación eficiente y específica a residuos cisteína, tirosina y arginina. La tecnología genética recombinante puede ser empleada para lograr expresiones precisas de residuos específicos para la pegilación. También existen otras técnicas que emplean enzimas e ingeniería genética para el acoplamiento de los polímeros a las proteínas (Ekladius et al., 2019).

La configuración del PEG puede ser ajustada para ser una estructura lineal o ramificada con varios procesos de síntesis. La pegilación ramificada puede incrementar el tamaño en los fármacos y aumenta el peso molecular total sin influir en el tamaño de la estructura final evitando ocupar muchos sitios activos y reducir su actividad, además puede mejorar el pH y

la estabilidad térmica. Mientras que los sistemas acoplados con PEG lineal pueden evitar la digestión proteolítica y la unión innecesaria de proteínas que facilitan la temprana degradación.

Estructuralmente, los PEG aplicados con mayor frecuencia actualmente son los que tienen grupos hidroxilo terminales (HO-PEG-OH) y monometoxi PEG (mPEG) con un solo grupo hidroxilo. Aunque la química de la pegilación provee más posibilidades de modificar el PEG con otros grupos activos para que pueda ser utilizado para unirlos a péptidos, proteínas y sistemas de liberación de fármacos (Liu et al., 2016).

### 3.3.1. Síntesis orgánica

De manera general, la conjugación de PEG a otras moléculas se lleva a cabo mediante la funcionalización de uno o ambos grupos terminales del PEG y posteriormente su unión a la molécula de interés.

Los métodos más comunes para la activación de los hidroxilos terminales del PEG son: el método con cloruro cianúrico y sus variantes y el método con succinimidil succinato PEG, el succinimidil activa ésteres y fenilcarbonatos. La idea principal es sustituir el grupo hidroxilo del PEG por un grupo funcional electrofílico para que sea más afín a grupos específicos como aminas, grupos sulfhídrido y otros nucleófilos.

Estas técnicas utilizadas para la modificación de PEG son simples y directas y mayormente dependiente de grupos activos como anhídridos, cloruros y carbonatos. Aunque también hay un inconveniente detrás de este procedimiento y es que es difícil producir PEG modificado con mono extremo y alto peso molecular (F. Liu et al., 2016).

Las estrategias utilizadas comúnmente para la conjugación incluyen el uso de dos agentes de acoplamiento como diciclohexil carbodiimida (DCC) y 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida o uso de ésteres de N-hidroxisuccinimida (NHS). La conjugación química de fármacos u otras biomoléculas a polímeros y sus variables pueden formar enlaces estables, lo cual es esencial para prevenir la liberación del fármaco durante su transporte hasta que llegue al sitio blanco.

Los enlaces covalentes son enlaces comparativamente estables y pueden llevar el fármaco al sitio blanco. De cualquier manera, en algunas instancias los enlaces podrían no facilitar la liberación de fármacos y péptidos bajo la influencia de cambios aceptables en el ambiente.

En el pasado, los sistemas pegilados habían sido diseñados principalmente para liberación de agentes anticancerígenos debido a sus implicaciones globales en el tratamiento. Debe de sobresaltarse que se espera que los conjugados PEG-fármaco anti-tumor sean estables durante la circulación y que se degraden/hidrolicen únicamente al llegar al sitio blanco. Estos

conjugados también pueden ser adaptados para liberar el fármaco *in situ* con una activación de enzimas extra o intracelulares o con cambios de pH.

Se debe tomar que cuenta que el PEG tiene limitaciones para ser conjugado debido a que solo posee uno (o en el caso del PEG modificado, dos) grupos terminales funcionales al final de la cadena del polímero. Para sobrellevar esta limitación del PEG, se ha propuesto acoplarlo con aminoácidos como aminoácidos dicarboxílicos y ácido aspártico. Esta derivatización incrementa el número de grupos activos a diferencia del PEG original. Usando el mismo método con repetitiva derivatización se han logrado estructuras dendriméricas a cada extremo del PEG. Los polímeros de PEG con terminales hidroxilo pueden ser fácilmente modificados por moléculas con cadenas alifáticas o aminoácidos pequeños (Banerjee et al., 2012).

Los derivados de PEG son comúnmente usados para acoplarlos a grupos funcionales de agentes activos biológicamente. Basado en los sitios reactivos de las entidades biológicamente activas, la pegilación requiere diferentes funcionalidades de los reactivos de PEG de acuerdo con la Tabla 5. La cuidadosa selección de la química de pegilación y las condiciones de reacción dan como resultado productos pegilados con diferentes propiedades terapéuticas. En general, para maximizar los beneficios farmacológicos de la pegilación, se debe formar una unión estable entre el polímero de PEG y el fármaco. En conjunto el polímero de PEG primero es activado para que reaccione con la molécula a la cual se unirá. Hay gran variedad de modificaciones químicas usadas para preparar un derivado de PEG activo con grupos funcionales tales como carbonato, éster activo, aldehído o tresilato que son adecuados para acoplarse a una molécula diana determinada. El derivado de PEG activado es unido covalentemente al grupo reactivo del fármaco o molécula diana.

**Tabla 5.** Guía general para la selección de reactivos para pegilación (Poovi & Damodharan, 2018).

Reactivos de PEG	Pegilación
<b>Pegilación de amina y pegilación N-terminal:</b> Los reactivos de PEG reaccionan con aminas presentes en macromoléculas biológicas	
PEG-NHS	El éster activado de N-hidroxisuccinimida (NHS) del ácido carboxílico del PEG puede reaccionar con el grupo amino de la lisina. El acoplamiento requiere condiciones leves como pH de 7-9, baja temperatura de 5 a 25 °C por un periodo de tiempo corto. El enlace de amida formado es fisiológicamente estable

**Tabla 5.** Guía general para la selección de reactivos para pegilación (Continuación) (Poovi & Damodharan, 2018).

Reactivos de PEG	Pegilación
PEG-aldehído	Aminación reductiva con aminos primarias para producir aminos secundarias, en la presencia de agentes reductores como borohidruro de sodio y ciano borohidruro de sodio. El pH es un parámetro importante durante la aminación reductiva
PEG-isocianato	Reacción con una amina para producir un enlace de uretano estable
PEG epóxido	Adición nucleofílica
PEG-isotiocianato	Reacciona con una amina para producir un enlace de tiourea estable
PEG-COOH	Usualmente, el ácido debe activarse, como el éster NHS.
PEG-NPC	La amina reacciona con NPC funcionalizado bajo las condiciones apropiadas
PEG-acrilato	Adición de Michael de amina y acrilato de éster
<b>Pegilación de carboxilo:</b> Los reactivos de PEG reaccionan con el ácido carboxílico en presencia de agentes acoplantes como DCC (N,N'-diclohexil carbodiimida) y EDIC (N-(3-dimetilaminopropilo)-N'-etilcarbodiimida, clorhidrato)	
PEG-amina	Formación de amida bajo condiciones de acoplamiento con DCC o EDIC
PEG-hidrazida	Después de su activación por EDIC a pH levemente ácido, el grupo carboxilo de las proteínas reaccionan fácilmente con el PEG-hidrazida, mientras que los grupos amino presentes en todos los reactivos permanecen inactivos en estas condiciones particulares
<b>Pegilación de tiol:</b> La pegilación de tiol es para tioles libres de moléculas biológicas como cisteína	
PEG-Maleimida	Adición de Michael, el tiol reacciona con el enlace C=C en el anillo maleico para formar una unión fisiológicamente estable. La condición ideal de reacción es a pH 8
PEG-OPSS	La formación de enlace disulfuro S-S, el cual puede ser invertida mediante agentes reductores como boro hidrato de sodio y tioetanolamina
PEG-vinil sulfona	Adición de Michael, los tioles reaccionan con los enlaces C=C para formar un enlace fisiológicamente estable
PEG-tiol	Formación oxidativa de enlaces disulfuro S-S
<b>Pegilación de hidroxilo</b>	
PEG-isocianato	Los grupos hidroxilo reaccionan con PEG-NCO, pero algunas consideraciones especiales son requeridas
PEG-NPC	Los grupos hidroxilo reaccionan con NPC para formar un enlace de carbonato
PEG-epóxido	El PEG-epóxido reacciona mejor con hidroxilos a un pH 8.5-9.5

Los fármacos de bajo peso molecular, generalmente sintetizados mediante reacciones químicas orgánicas, a menudo presentan problemas cuando son utilizadas de manera

terapéutica, tales como baja solubilidad, vida media corta, alta toxicidad o biodistribución no dirigida. La pegilación se aplica a estas moléculas para sobrellevar estos obstáculos, ya que mejora la baja solubilidad en agua lo cual lleva a obtener una mejor farmacocinética y biodisponibilidad. Sin embargo, el potencial de la pegilación para el acarreamiento de moléculas orgánicas pequeñas se ha visto limitada por la baja capacidad de carga de fármacos; el PEG lineal convencional tiene solo dos sitios finales reactivos. Para solucionar este problema, se han utilizado los PEGs multifuncionales bifurcados, multibrazos o dendríticos con grupos multifuncionales. Estos PEGs con sitios multi-reactivos pueden combinarse con un principio activo y un agente de direccionamiento por una focalización activa.

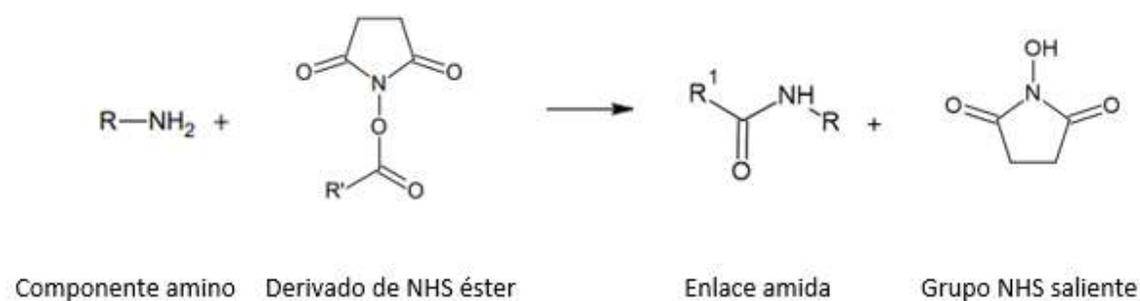
En la reacción de pegilación, las moléculas de PEG se unen mediante enlaces reversibles e irreversibles. Los enlaces irreversibles generalmente requieren el uso de PEG con peso molecular debajo de 1000 Da ya que moléculas de PEG más grandes podrían disminuir significativamente la actividad de los fármacos pequeños por impedimento estérico en las células blanco. La pegilación reversible es efectiva en enfoque de profármaco, por lo cual la molécula de fármaco es liberada del conjugado con PEG mediante reacciones enzimáticas en el cuerpo. Este tipo de pegilación permite el uso de PEGs de alto peso molecular (mayormente de 20 a 60 kDa) para incrementar el tiempo de circulación y mejorar la solubilidad en agua (Park et al. 2019).

#### 3.3.1.1. PEG N-hidroxisuccinimida (NHS) ésteres y métodos de acoplamiento

Los PEG-NHS ésteres se encuentran disponibles fácilmente los cuales son reactivos con nucleófilos para liberar el grupo saliente NHS y formar productos acetilados (Figura 7). NHS es una elección para el acoplamiento de aminas, por su alta reactividad a pH fisiológico en la síntesis de bioconjugación. En particular, los grupos carboxilo activados con NHS ésteres son altamente reactivos con aminas nucleófilas y son entidades muy comunes en péptidos y proteínas. Los polímeros que contienen grupos hidroxilo reactivos (por ejemplo, PEG) pueden ser modificados para obtener compuestos anhídridos. Por otro lado, mPEG puede ser acetilado con anhídridos para formar una terminación éster a grupos carboxilados libres.

Los PEG reactivos y sus derivados con succinimidil succinato y succinimidil glutamato son usados para la conjugación con fármacos o proteínas. Son usuales dos tipos de reacciones acoplantes que involucran grupos amino: (a) acilación y (b) alquilación. Estas reacciones son comparativamente eficientes para formar un enlace amina estable. Adicionalmente, las reacciones de acoplamiento de carbodiimida o reticuladores de longitud cero son usadas comúnmente para acoplamiento o reacciones de condensación. La mayoría de las metodologías de acoplamiento implican el uso de agentes heterobifuncionales para acoplar a través de residuos de lisina modificados en una proteína a grupos sulfhídrido en la segunda

proteína, mientras que la modificación de residuos de lisina involucra el uso de un agente heterobifuncional que comprende un grupo funcional NHS, juntos con maleimida o grupos sulfhídrido protegidos. La unión formada puede ser un puente disulfuro o un enlace tioéter, dependiendo de si el grupo introducido es un sulfhídrido o maleimida, respectivamente. El grupo tiol en la segunda proteína puede ser un sulfhídrido endógeno libre, o químicamente introducido por modificación de residuos de lisina (Banerjee et al., 2012).



**Figura 7.** Los compuestos de NHS éster reaccionan con nucleófilos para liberar al grupo saliente NHS y formar un producto acetilado (Banerjee et al., 2012).

### 3.3.2. Radiación ionizante

Actualmente, los procesos industriales para la mejora de los materiales poliméricos, basados en la radiación química incluyen: polimerización, injerto bajo irradiación o post-irradiación, reticulación, degradación, ciclación, resistencia a la radiación y preparación de materiales compuestos.

Las radiaciones ionizantes están compuestas de fotones (gamma o rayos X, radiación de frenado o bremsstrahlung), partículas aceleradas (electrones, iones ligeros, iones pesados), y partículas expulsadas de emisores radiactivos (partículas  $\alpha$  o  $\beta$ ). Estos depositan energía en el material a través de varios procesos de interacción, dependiendo del tipo de radiación y su energía.

La energía depositada mediante radiación ionizante son varias órdenes de magnitud más altas que cualquier unión química. Por lo tanto, cualquier molécula presente en el material que recibe radiación ionizante puede absorber la energía. Como una consecuencia de esto, y en contraste con las radiaciones ultravioleta, no hay grupos específicos o insensibles a este método.

Los fotones de alta energía interactúan con el polímero a través de:

- (i) Efectos fotoeléctricos a baja energía ( $\sim 1 - 10^2$  keV)
- (ii) Efecto Compton ( $10^2 - 10^4$  keV)

(iii) Producción de pares electrón-positrón para energía mayor a 1.02 MeV y para materiales que contienen átomos pesados.

Basándose en la energía de los fotones usados para el procesamiento o estudio de polímeros, el efecto Compton es preponderante. Como consecuencia, se produce una gran cantidad de electrones secundarios energéticos, lo que induce una mayor deposición durante su interacción con los electrones objetivo.

Independientemente del tipo de radiación ionizante, entre la alta energía de fotones o electrones, las transformaciones químicas o daños en los materiales irradiados se llevan a cabo por los electrones secundarios y su interacción con los electrones de las moléculas.

Las interacciones entre los fotones o electrones de alta energía y la materia se llevan a cabo a los  $10^{-15}$  segundos, induciendo la formación de intermediarios transitorios: iones, moléculas con electrones excitados y radicales libres. La interacción de la radiación ionizante con la materia no es un proceso continuo sino una serie de eventos: los intermediarios se crean, estos pueden estar aislados o traslapados, dependiendo de la energía de los electrones. Basado en la estructura de la deposición de energía, los intermediarios transitorios pasan por una repartición no homogénea a través del material, la cual es determinada por la energía y el tipo de radiación o partícula y está relacionada con la potencia de frenado. La potencia de frenado cuantifica la pérdida de energía por unidad de longitud y también es conocida como transferencia de energía lineal en el dominio de la energía donde la interacción electrónica es preponderante y la pérdida de energía por la partícula es igual a la energía ganada por el medio. Debido a que esto es aplicable en los dominios de energía usados en el procesamiento de polímeros, la potencia de frenado puede ser usada de manera alternativa. La transferencia de energía lineal puede ser expresada en varias unidades:  $\text{eV \AA}^{-1}$ ,  $\text{eV nm}^{-1}$ ,  $\text{keV } \mu\text{m}^{-1}$ ,  $\text{MeV mm}^{-1}$ .

Una parte de los intermediarios reacciona y el resto se encuentra disponible para reaccionar con el material. La transferencia de energía lineal influye principalmente en la repartición inicial de los intermediarios y sus reacciones.

Los iones acelerados pueden depositar su energía a través de colisiones elásticas con el núcleo o no elásticas con los electrones blanco.

Para los procesos de polímeros, los iones depositarán su energía a través de interacciones electrónicas (Ferry et al., 2016).

Dependiendo de la dosis, presencia de oxígeno, y la presencia de antioxidantes los radicales libres experimentan varias reacciones. En presencia de oxígeno, la irradiación con altas dosis de rayos X favorece el entrecruzamiento mientras que la irradiación con dosis bajas de  $\text{Co}^{60}$  promueve reacciones de degradación.

La radiación ionizante se ha convertido en un método efectivo de modificar polímeros sintéticos y naturales a través del entrecruzamiento, degradación e injerto. Durante décadas, las radiaciones de baja transferencia de energía lineal (LET) como rayos X y rayos gamma, han sido la herramienta primaria para la producción con reacciones de polimerización.

La ventaja de los procesos con radiación en comparación con procesos tradicionales son la ausencia de residuos químicos (ya que no se requieren aditivos químicos para iniciar la reacción), puede realizarse a cualquier temperatura y puede ser limitado a la superficie. En algunos casos se puede combinar la síntesis y modificación de materiales con la esterilización.

La dosis absorbida se define como la cantidad de energía absorbida por unidad de masa del producto irradiado. El sistema internacional de unidades (SI) usa el gray (Gy) para medir la radiación, pero la dosis absorbida de radiación también es comúnmente usada. Un gray es igual a una dosis absorbida de 1 J/kg o 100 rad (Ashfaq et al., 2020; Darwis et al., 2015).

#### *Tipos y fuentes de radiación ionizante*

La radiación es una forma de energía emitida por una fuente que viaja a través del material en forma de partículas u ondas. Hay dos tipos de radiación ionizante, radiación electromagnética y partículas cargadas de alta energía. La radiación ionizante se puede obtener de dos diferentes fuentes, radioisótopos y máquinas de descarga eléctrica. Los radioisótopos que se usan comúnmente son cobalto 60 ( $\text{Co}^{60}$ ) y cesio 137 ( $\text{Cs}^{137}$ ) que emiten rayos gamma, tienen un tiempo de vida media de 5.26 y 30 años respectivamente.

Los rayos X de alta energía son generados por una máquina hecha por el hombre. Las partículas cargadas de alta energía son generados por aceleradores de electrones. Sus aplicaciones dependen de la energía. Los electrones de baja energía son usados para tintas de impresoras, recubrimiento de superficies de madera, producción de antiestáticos, antiempañantes y adhesivos mientras que electrones de energía media son usados para modificar la reología de los polímeros y esterilizar objetos delgados. Los electrones de alta energía son usados para la esterilización de dispositivos médicos, tratamiento de aguas y modificación de polímeros (Darwis et al., 2015).

#### *Dosis absorbida*

Las modificaciones inducidas por radiación en ciertos materiales dependerán de la dosis absorbida, la cual corresponde a la energía depositada mediante radiación por unidad de masa de material. Su unidad es el gray, Gy, y 1 Gy corresponde a 1 Joule de energía depositada en 1 kg de material.

Muchas de las aplicaciones en la industria de la radiación convencional requieren la dosis absorbida para que se distribuya uniformemente en todo el material. Los perfiles de dosis pueden existir en un material debido a varias causas, entre estas se encuentra la limitación del rango de penetración comparado con el grosor de la muestra, la carga de las partículas, o la variación en el equilibrio electrónico entre la superficie y la masa, para rayos gamma. La presencia de sustancias con composiciones químicas o densidades muy diferentes pueden provocar que haya una heterogeneidad en la dosis. Por lo tanto, se recomienda usar el método de Monte Carlo para calcular la dosis depositada por fuentes de radiación. Los códigos más comunes son:

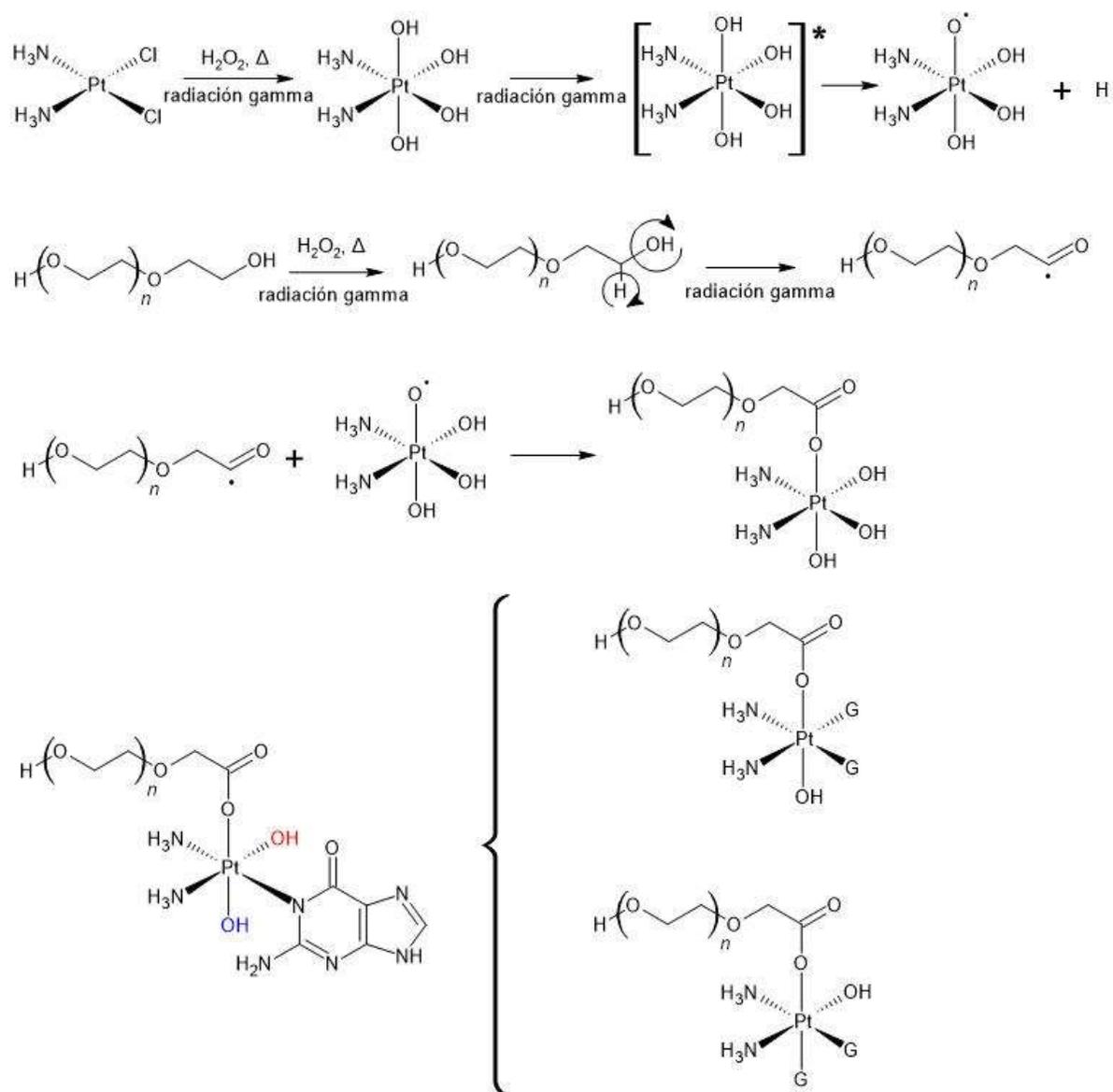
- i) PENELOPE que realiza una simulación del transporte de electrones-fotones acoplados,
- ii) MCNP que tiene un propósito general del código de Monte Carlo para N-partícula, el cual puede ser usado para el transporte de neutrones, fotones, electrones, o neutrones/fotones/electrones acoplados en una configuración arbitraria tridimensional de materiales,
- iii) Geant4 es una herramienta para la simulación de como pasan las partículas a través de la materia.

Las moléculas excitadas generadas por la irradiación crean radicales libres, estos pueden quedar atrapados en el polímero y el tiempo que queden dentro estará dependerá de la estabilidad del radical y de la composición del material (Ferry et al., 2016).

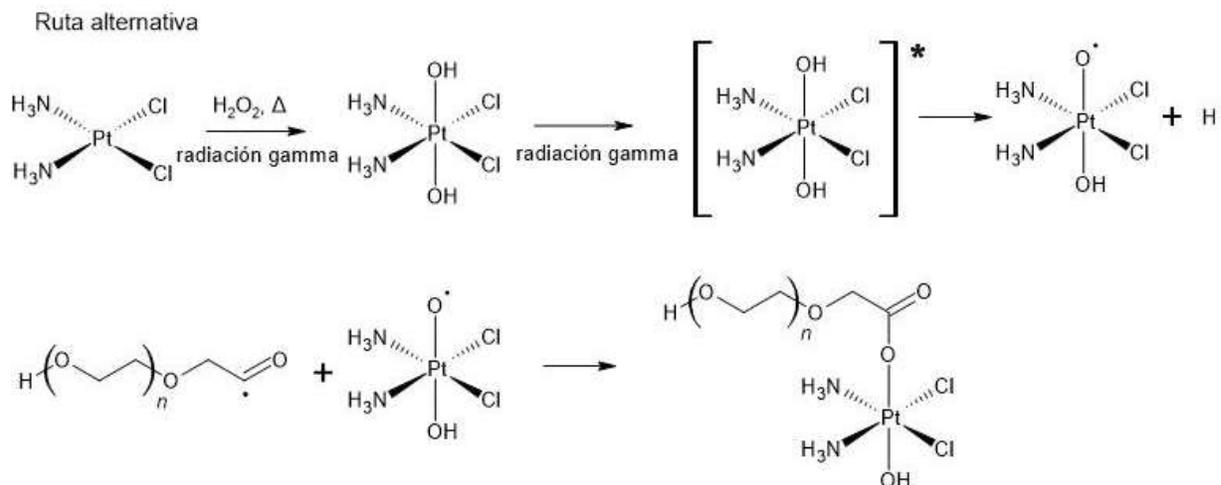
La radiación ionizante ha permitido la elaboración de diferentes formulaciones con polímeros como nanocompositos e hidrogeles. Estos ejemplos han llevado a grupos de estudio a realizar el método de pegilación mediante radiación, siendo una herramienta conveniente ya que no requiere de reactivos ni condiciones especiales para llevarla a cabo.

La pegilación mediante radiación ionizante se realizó por primera vez con un anticancerígeno, se utilizó el método debido a que, generalmente la pegilación de fármacos pequeños se ha visto limitada al uso de mPEG u otros derivados del polietilenglicol, lo cual implica inconvenientes como la presencia de PEG diol, entrecruzamiento y agregados inactivos. Para evitar estos inconvenientes se propuso la pegilación directa usando  $\text{Co}^{60}$ . El mecanismo de pegilación propuesto se encuentra en la Figura 8. El método se llevó a cabo en agua bidestilada, la cual al irradiar con fotones gamma se ioniza produciendo electrones secundarios con energía suficiente para ionizar otras moléculas y formar cúmulos de iones. Los radicales iónicos de agua se disociaron y las moléculas de agua excitadas disiparon su exceso de energía para producir radicales hidroxilo y iones de hidrógeno que generaron peróxido de hidrogeno, el cuál reaccionó con el cisplatino al ser expuesto a radiación gamma.

Los resultados y análisis permitieron concluir el éxito del método, siendo una alternativa al uso de derivados de PEG, este nuevo conjugado parece tener el mismo potencial terapéutico que el cisplatino sin pegar, sin embargo, hace falta realizar estudios clínicos, aunque este nuevo método es prometedor para el futuro de la pegilación (González Torres et al., 2018).

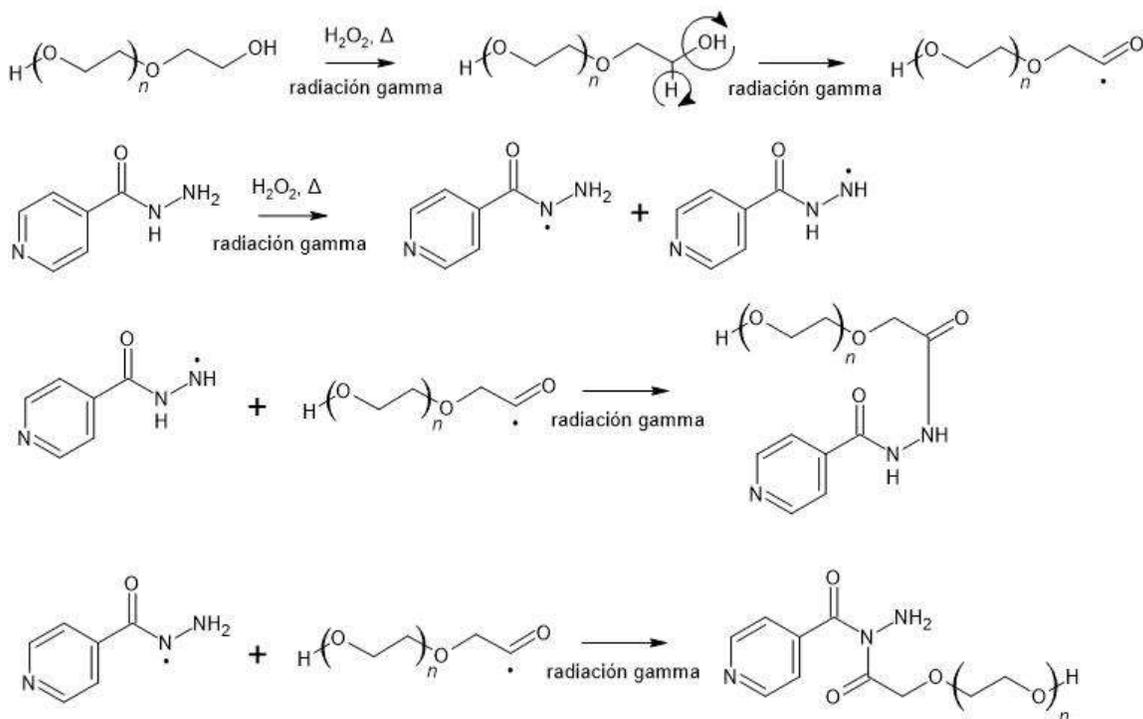


**Figura 8.** Mecanismo propuesto de la pegilación inducida con radiación gamma de cisplatino (González Torres et al., 2018).



**Figura 8.** Mecanismo propuesto de la pegilación inducida con radiación gamma de cisplatino (Continuación) (González Torres et al., 2018).

Posteriormente, el método se usó para la síntesis isoniazida pegilada con irradiación gamma, se sometió a radiación con  $\text{Co}^{60}$  la isoniazida y las disoluciones de PEG con agua bidestilada. El mecanismo de la pegilación propuesto se encuentra en la Figura 9 (González Torres et al., 2019).



**Figura 9.** Mecanismo propuesto de la pegilación de isoniazida inducida con radiación gamma (González Torres et al., 2019).

### 3.4. Ejemplos

Desde la aparición de los primeros productos enzimáticos pegilados (PEG-adenosina desaminasa; Adagen® y PEG-L-asparaginasa; Oncaspar®) los cuales se lanzaron al mercado a principios de los 90s, cerca de otros 18 productos pegilados han sido aprobados y comercializados los cuales se muestran en la Tabla 6. Los productos pegilados aprobados incluyen varias clases de moléculas de fármacos, tales como enzimas (adenosina desaminasa, asparaginasa, uricasa y fenilalanina amoniaco liasa), interferones (interferón  $\alpha$ -2a, interferón  $\alpha$ -2b e interferón  $\beta$ -1a), factores estimulantes de colonias de granulocitos, hormonas (epoetina- $\beta$ ), fragmentos de anticuerpos (anti-TNF Fab), factores de coagulación, aptámeros de oligonucleótidos, péptidos sintéticos y moléculas orgánicas pequeñas (naloxon).

**Tabla 6.** Fármacos pegilados aprobados por la FDA (Park et al. 2019).

Nombre comercial	Compañía	Fármaco	PEG unido	Enfermedad	Año de aprobación
Adagen	Enzon	Adenosina desaminasa	Múltiple 5 kDa	Enfermedad por inmunodeficiencia combinada grave	1990
Oncaspar	Enzon	Asparaginasa	Múltiple 5 kDa	Leucemia linfoblástica aguda	1994
PegIntron	Schering-Plough	Interferón $\alpha$ -2b	12 kDa	Hepatitis C	2001
Pegasys	Roche	Interferón $\alpha$ -2a	Ramificado de 40 kDa	Hepatitis C	2001
Neulasta	Amgen	Filgrastim	20 kDa	Neutropenia	2002
Somavert	Pfizer	Antagonista del receptor de la hormona de crecimiento	4-6 x 5 kDa	Acromegalia	2003
Macugen	Pfizer	Aptámero anti-VEGF	Ramificado de 40 kDa	Degeneración macular	2004
Mircera	Roche	Epoetina- $\beta$	30 kDa	Anemia asociada a enfermedad crónica de riñón	2007
Cimzia	UCB	Anti-TNF Fab	Ramificado de 40 kDa	Artritis reumatoide y enfermedad de Crohn	2008

**Tabla 6.** Fármacos pegilados aprobados por la FDA (Continuación) (Park et al. 2019).

Nombre comercial	Compañía	Fármaco	PEG unido	Enfermedad	Año de aprobación
Krystexxa	Savient	Uricasa	9-11 x 10 kDa	Gota crónica	2010
Sylatron	Merck	Interferón $\alpha$ -2b	12 kDa	Melanoma	2011
Omontys (peginesatide)	Affymax/ Takeda	Eritropoyetina mimética Péptido homodimérico	Ramificado de 40 kDa	Anemia asociada a enfermedad crónica de riñón	2012 (retirado)
Movantik	AstraZeneca/Nektar	Naloxona	Heptaetilglicol	Constipación inducida por opioides	2014
Plegridy	Biogen Idec	Interferón $\beta$ -1a	20 kDa	Esclerosis múltiple	2014
Adynovate	Shire	Factor de coagulación VIII	20 kDa	Hemofilia A	2015
Rebinyon	Novo Nordisk	Factor de coagulación IX	40 kDa	Hemofilia B	2017
Jivi	Bayer	Factor de coagulación VIII	60 kDa	Hemofilia A	2018
Palynziq (Pegvaliase)	BioMarin	Fenilalanina amoniacal liasa	20 kDa	Fenilcetonuria	2018

De los medicamentos pegilados aprobados desde 1990, 15 productos son biofarmacéuticos a base de proteínas y se estima que estos son parte de un mercado multibillonario. Representativamente, pegfilgrastim (Neulasta<sup>®</sup>, Amgen y Kyowa Hakko Kirin) es el producto pegilado más vendido con ventas anuales globales de más de 4 billones de dólares y sus versiones biosimilares, como pegfilgrastim-jmdb (Fulphila<sup>®</sup>, Mylan Pharmaceuticals) y pegfilgrastim-cbqv (Udenyca<sup>®</sup>, Coherus BioSciences) fueron recientemente aprobados por la FDA (Park et al. 2019).

El éxito que ha tenido la pegilación para contrarrestar los problemas de moléculas terapéuticas ha traído avances importantes y actualmente hay muchos otros productos

pegilados en estudios clínicos esperando a ser aprobados, estos productos se encuentran descritos en la Tabla 7.

**Tabla 7.** Moléculas conjugadas con PEG en desarrollo clínico (Ekladius et al., 2019).

Nombre (compañía)	Fármaco	Indicación	Etapa
Turoctocog alfa pegol (Novo Nordisk)	Factor VIII	Hemofilia A	Pre-registro
Calaspargasa pegol (Shire)	Asparaginasa	Leucemia linfoblástica aguda y linfoma linfoblástico	Pre-registro
Elapegademas (Leadiant Biosciences)	Adenosin desaminasa	Inmunodeficiencia severa combinada de adenosin desaminasa	Pre-registro
Pegvorhialuronidasa alfa (Halzome Therapeutics)	Hialuronidasa	Cáncer pancreático	Fase III
TransCon Hormona del crecimiento (Ascendis Pharma)	Hormona del crecimiento humana	Deficiencia de la hormona del crecimiento	Fase III
Pegilodecakin (ARMO BioSciences)	IL-10	Cáncer pancreático	Fase III
Pegargiminasa (Polaris Pharmaceuticals)	Arginina deiminasa	Mesotelioma	Fase II/III
BCT-100 (Bio-Cancer Treatment International)	Arginasa 1	Leucemia mieloide aguda	Fase II
Pegsiticase (Selecta BioSciences)	Uricasa	Gota crónica	Fase II
Sanguinate (Prolong Pharmaceuticals)	Carboxihemoglobina	Drepanocitosis	Fase II
Pegzilarginasa (Aeglea BioTherapeutics)	Arginasa 1	Deficiencia de arginasa 1	Fase II
BMS-986036 (Bristol-Myers Squibb)	Factor de crecimiento de fibroblastos 21	Esteatosis hepática no alcohólica	Fase II
Dapirolizumab pegol (UCB Pharma)	Anti-CD40L Fab	Lupus eritematoso sistémico	Fase II
Zimura (Ophthotech Corporation)	Inhibidor del complemento C5	Degeneración macular neovascular senil	Fase II

**Tabla 7.** Moléculas conjugadas con PEG en desarrollo clínico (Continuación) (Ekladius et al., 2019).

Nombre (compañía)	Fármaco	Indicación	Etapas
NKTR-214 (Nektar Therapeutics)	IL-2	Tumores sólidos	Fase I/II
Olaptesed pegol (NOXXON Pharma)	Aptámero anti CXCL12	Cáncer colorrectal y pancreático	Fase I/II
Fovista (Ophthotech Corporation)	Aptámero anti PDGFB	Síndrome von Hippel-Lindau	Fase I/II
BMS-986171 (Bristol Myers Squibb)	Factor de crecimiento de fibroblastos 21	Esteatosis hepática no alcohólica	Fase I
NKTR-358 (Nektar therapeutics)	IL-2	Lupus eritematoso sistémico	Fase I
99mTc-3PRGD2 (Beijing Pharbers Pharmaceutical Technology)	Tecnecio [99mTc] Hidrazinonicotinamida Péptido RGD bicíclico pegilado	Cáncer de pulmón metastásico	Fase III
PegiHepTM (Cadila Healthcare Limited)	Interferón $\alpha$ -2b	COVID-19	Fase II
Interferón lambda (Eiger BioPharmaceuticals)	Interferón lambda	COVID-19	Fase II
Norditropin (Xiamen Amoytop Biotech)	Somatropina pegilada con PEG en forma de Y	Deficiencia de la hormona del crecimiento	Fase III
PEG-adrenomedullin (Bayer)	Adrenomedulina	Síndrome de distrés respiratorio agudo	Fase II

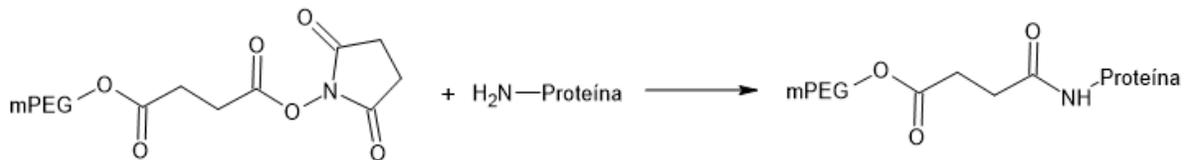
De los productos que hasta el momento se encuentran en el mercado, el componente PEG varía principalmente en su tamaño, estructura de ramificación y el tipo de unión. Adagen<sup>®</sup>, Krystexxa<sup>®</sup>, Neulasta<sup>®</sup>, Oncaspar<sup>®</sup>, PEG-Intron<sup>®</sup>, Somavert<sup>®</sup> y Plegridy<sup>®</sup> están pegilados con moléculas de PEG que tienen un peso molecular de 5 a 20 kDa. Cimzia<sup>®</sup>, Macugen<sup>®</sup>, Mircera<sup>®</sup>, Omontys<sup>®</sup> y Pegasys<sup>®</sup> están pegilados con moléculas de PEG de 30 o 40 kDa.

#### *Adagen<sup>®</sup> y Oncaspar<sup>®</sup>*

La tecnología de pegilación utilizada en los primeros dos productos pegilados se realizó con PEG de 5 kDa, lo cual resultó en una unión amida estable.

La enzima adenosina desaminasa está envuelta en un metabolismo de las purinas. Para la deficiencia de esta enzima se consideró en primer lugar usar adenosina desaminasa bovina de 41 kDa, sin embargo, al administrarla era rápidamente eliminada del plasma humano. La modificación de la misma enzima con 11 a 17 moléculas de PEG de 5 kDa con activación disulfuro (mPEG-SS) extendió su tiempo de vida media en circulación y disminuyó su inmunogenicidad. La molécula pegilada resultante fue comercializada como pegademasa (Adagen®) para el tratamiento de inmunodeficiencia combinada severa.

La L-asparaginasa pegilada conocida como pergaspargasa (Oncaspar®) es usada para tratamiento de leucemia linfoblástica en pacientes que tienen hipersensibilidad a la enzima nativa. La pegilación de la enzima obtenida de *E. coli* demostró una disminución de anticuerpos en animales comparado con la enzima nativa. Un ensayo preclínico usando PEG activado con cloruro cianúrico demostró una baja actividad específica pero la retención de la actividad pudo mejorarse usando mPEG-SS de 5 kDa (Figura 8).

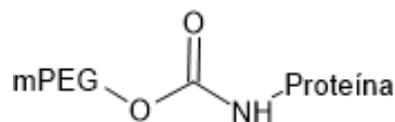


**Figura 10.** Conjugación de PEG con una proteína mediante una unión disulfuro.

#### *Krystexxa*®

La uricasa es una enzima utilizada para el tratamiento de gota, esta enzima se obtiene de mamíferos. La pegilación de la uricasa obtenida de mamíferos puede reducir parte de su inmunogenicidad, pero no la elimina por completo.

Esta proteína es un tetrámero de cuatro subunidades con un peso de 34 kDa cada una, y cada subunidad se encuentra unida a aproximadamente 9 moléculas de PEG de 10 kDa con un tamaño del conjugado final de 500 kDa (Figura 9).

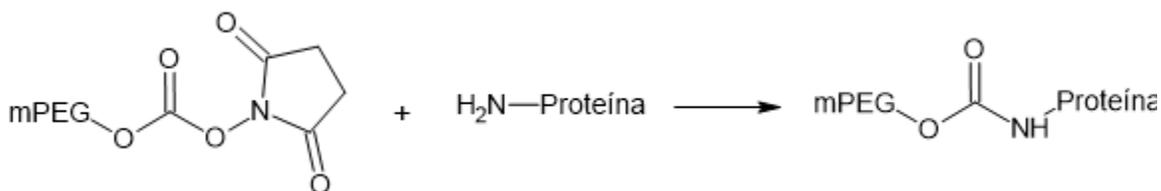


**Figura 11.** Estructura del conjugado de pegloticasa.

#### *PEG-Intron*®

Este producto es INF- $\alpha$ 2b monopegilado, el cual es sintetizado usando metoxiPEG succinimidil carbonato (mPEG SC) de 12 kDa. El producto comercial consiste en 14 isómeros

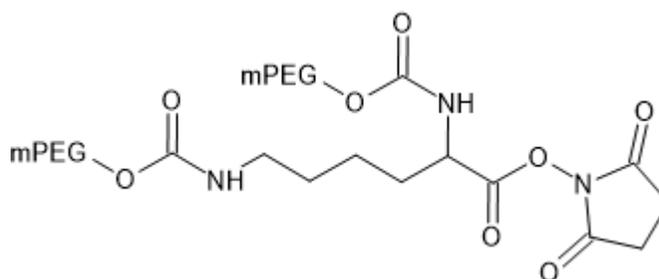
posicionales. La distribución posicional de los isómeros y la actividad de los conjugados resultantes es dependiente del pH de la reacción de pegilación (Figura 12).



**Figura 12.** Mecanismo de pegilación usado para la síntesis de PEG-Intron®.

### *Pegasys®*

Producto aprobado para el tratamiento de hepatitis C o B crónica, la proteína se encuentra monopegilada con PEG ramificado de 40 kDa y consiste en 4 isómeros posicionales principalmente (Figura 13).



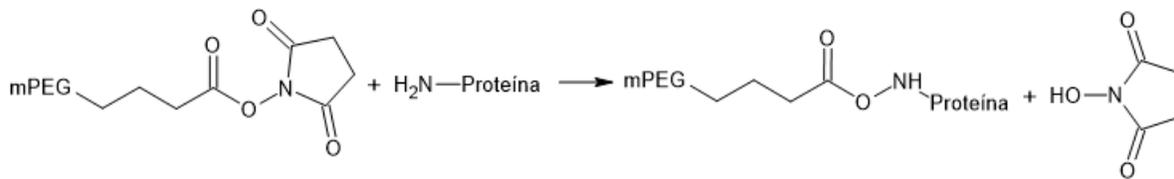
**Figura 13.** PEG ramificado utilizado para la pegilación de Pegasys®.

### *Somavert®*

El producto consiste en el análogo de la hormona de crecimiento recombinante pegilado con múltiples PEGs de 5 kDa. La adición de PEG aumentaba el peso molecular total a más de 40 kDa extendiendo su vida media a más de 70 horas, pero el conjugado de PEG y lisina interfería con la unión al receptor. La adición de un total de 8 aminoácidos al sitio de unión 1 hicieron que aumentara la afinidad por el receptor. El acoplamiento de los aminoácidos añadidos con un promedio de 4 a 6 PEGs de 5 kDa estables resulto en el fármaco comercializado.

### *Mircera®*

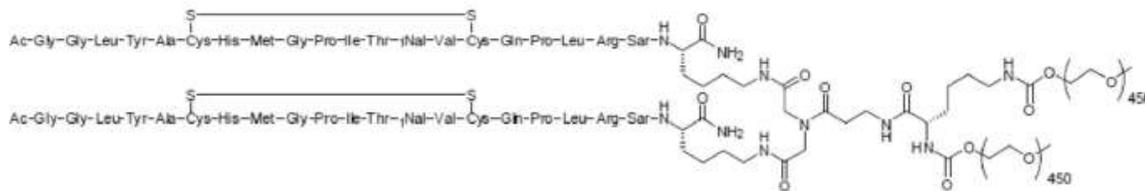
Mircera es un agente estimulante de la eritropoyesis con vida media extendida monopegilado usando mPEG succinimidil butanoato de 30 kDa, aprobado en 2007 para tratamiento de anemia asociada a falla renal crónica vía intravenosa y subcutánea (Figura 14).



**Figura 14.** Reacción de pegilación usada para la síntesis de Mircera® con mPEG succinimidil butanoato unido a lisina 52 y 56.

### *Omontys®*

Un péptido estimulante de la eritropoyesis pegilado. Consiste en dos cadenas idénticas de 21 aminoácidos covalentemente unidos a PEG ramificado de 40 kDa para un tamaño total de 45 kDa. El producto llegó a Estados Unidos en abril del 2012, sin embargo, tuvo efectos adversos inesperados que provocaron su retiro del mercado en febrero del 2013 (Figura 15).



**Figura 15.** Estructura de Omontys®, un péptido pegilado. Un enlazador ramificado conecta los dos péptidos a PEG ramificado de 40 kDa.

### *Macugen®*

Es un aptámero de 28 nucleótidos pegilado para el tratamiento intravítreo de degeneración macular relacionado a la edad. Generalmente los aptámeros tienen una vida media corta ya que sufre escisión por nucleasas. Por esta razón, requieren modificaciones para que funcionen como producto farmacéutico.

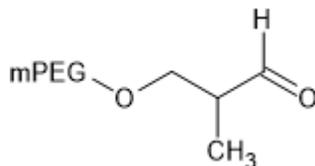
### *Neulasta®*

Es la forma del factor estimulante de colonias de granulocitos pegilada aprobada para el tratamiento de neutropenia. La pegilación se llevó a cabo con PEG de 20 kDa y la aplicación de química de aldehídos al factor estimulante usando una conjugación selectiva a pH bajo.

El acoplamiento usando agentes PEG alquilantes genera enlaces estables a la proteína sin reducir su carga. Estos agentes alquilantes como PEG aldehídos se usan para la pegilación selectiva en amino terminales.

### *Plegridy*<sup>®</sup>

Es la forma pegilada del interferón beta-1a (INF  $\beta$ -1a), aprobado para el tratamiento de esclerosis múltiple recurrente remitente. El INF  $\beta$ -1a no pegilado también es comercializado bajo el nombre de Avonex<sup>®</sup> para el mismo tratamiento, se recomienda que éste sea administrado una vez a la semana vía intramuscular mientras que el fármaco pegilado se administra cada 14 días vía subcutánea. Al INF  $\beta$ -1a se le unió covalentemente una molécula linear de mPEG-O-2-metilpropionaldehído (Figura 16).



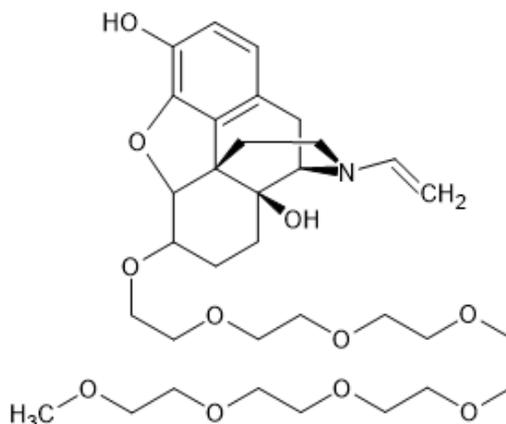
**Figura 16.** Estructura del PEG linear para modificar INF  $\beta$ -1a.

### *Cimzia*<sup>®</sup>

Es un fragmento de un anticuerpo monoclonal específico del factor de necrosis tumoral (anti-TNF) pegilado, aprobado para el tratamiento de artritis reumatoide crónica de moderada a severa, enfermedad de Crohn y espondilartrosis axial. El fragmento del anticuerpo es producido mediante *E. coli* y unido a PEG de 40 kDa.

### *Movantik*<sup>®</sup>

El producto Movantik<sup>®</sup> es producido por el laboratorio AstraZeneca, el cual consiste en naloxona pegilada, la naloxona es una molécula pequeña con un peso molecular de 651.79 g/mol al cual se le unió al grupo 6- $\alpha$ -hidroxilo del  $\alpha$ -naloxol mediante una unión éter (Figura 17). Este medicamento fue aprobado en 2014 por la European Medicines Agency como tratamiento de constipación inducida por opioides en pacientes adultos que tienen una respuesta inadecuada a los laxantes administrando una tableta diaria, y también fue aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) como tratamiento para constipación inducida por opioides en pacientes adultos con dolor crónico (Park et al., 2019; Turecek et al., 2016).



**Figura 17.** Naloxona con PEG unido al grupo 6- $\alpha$ -hidroxilo.

### 3.4.1. Caracterización de conjugados con PEG

El PEG no es detectable por sí mismo ya que no posee color ni fluorescencia, además no libera productos fáciles de cuantificar después de la hidrólisis. Para detectar los conjugados con PEG se puede realizar una reacción colorimétrica de PEG con yodo para su evaluación directa, aunque este método posee una baja sensibilidad.

La caracterización mediante espectroscopia IR a menudo resulta en la identificación de los grupos funcionales y la manera en la que se encuentra unido al polímero, y en algunos casos el espectro de absorción constituye una huella molecular. El grado de sustitución del polímero puede ser evaluada por los diferentes tiempos de retención al eluir en cromatografía de permeación en gel, donde se muestran los conjugados modificados de diferente manera. Los métodos colorimétricos y fluorimétricos son utilizados para calcular el número de cadenas unidas de PEG desde la disminución de grupos amino sin reaccionar con respecto a los totales antes de que se lleve a cabo la reacción.

La espectroscopia de masas MALDI (desorción/ionización mediante laser asistida por matriz) y la espectroscopia de masas tipo electrospray fue propuesta para la evaluación de las proteínas conjugadas con PEG. Para evaluar la distribución de los conjugados formados y la cinética de las reacciones de pegilación, se usa la cromatografía de exclusión por tamaño en combinación con dispersión de luz con múltiples ángulos. Subsecuentemente, la cromatografía de intercambio de iones se realizó para cuantificar las diferentes isoformas de lisozimas monopegiladas. La electroforesis capilar también ha sido utilizada para la caracterización de proteínas conjugadas con PEG. Este método permite una gran separación de los isómeros de PEG-proteína que no se pueden detectar mediante HPLC o cromatografía de intercambio iónico. Finalmente, la electroforesis SDS-PAGE es utilizada rutinariamente para monitorear la reacción de pegilación, sin embargo, este método está limitado a

péptidos o proteínas de bajo peso molecular pegilados ya que el obstáculo de los conjugados interfiere con la penetración en el gel.

El marcaje fluorescente de las moléculas da información cualitativa, es una herramienta versátil, específica, altamente sensible y simple de realizar, esta herramienta también permite conocer la distribución de las moléculas pegiladas en órganos y células.

Algunos métodos para determinar el peso molecular de polímeros se encuentran resumidos en la Tabla 8.

El marcaje radioactivo es un método sensible y seguro para el rastreo de moléculas, los analitos pueden ser marcados al reemplazar átomos en la estructura molecular con su radioisótopo o ser químicamente modificado con radionúclidos. Debido a que el marcaje no altera la estructura de la molécula se puede hacer un seguimiento del comportamiento farmacocinético para determinar la absorción, distribución, metabolismo y excreción *in vivo* (Poovi & Damodharan, 2018; Z. Zhang et al., 2020).

**Tabla 8.** Métodos para determinar el peso molecular de un polímero (Poovi & Damodharan, 2018)

Método	Parámetro medido
Ensayo del grupo final	Número de grupos finales en una cantidad conocida de polímero
Crioscopia	Punto de congelación de una solución diluida de polímero
Ebullometría	Punto de ebullición de una solución diluida de polímero
Osmometría de presión de vapor	Diferencia de temperatura entre gotas de solución de polímero y disolvente en vapor de disolvente saturado
Osmometría de membrana	Presión osmótica de un solvente polimérico
Ultracentrifugación	Concentración de polímero después de una centrifugación controlada
Dispersión de luz	Intensidad de la luz dispersa por una solución diluida de polímero
Cromatografía de exclusión molecular	Volumen de una solución de polímero eluido a través de una columna de cromatografía de exclusión molecular empacada con micropartículas porosas
Cromatografía de exclusión molecular y dispersión de luz	Volumen de una solución de polímero eluido a través de una columna de cromatografía de exclusión molecular empacada con micropartículas porosas e intensidad de la luz dispersa por una solución diluida de polímero

**Tabla 8.** Métodos para determinar el peso molecular de un polímero (Continuación).

Método	Parámetro medido
Viscosimetría	Tiempo de flujo de una solución de polímero a través de un capilar

### 3.5. Perspectivas

La modificación de proteínas, péptidos y otras moléculas terapéuticas con su conjugación con polietilenglicol es un método bien conocido para mejorar las propiedades farmacológicas y farmacocinéticas. Aunque esta tecnología ha permitido el desarrollo y aprobación para la comercialización de diversos medicamentos, aún existe una situación compleja de propiedad intelectual que abarca la pegilación de sitios específicos y agentes PEG ramificados, lo que dificulta el uso más amplio de tecnologías modernas para nuevos productos. La expiración de estas patentes daría lugar a la libertad de operar la tecnología de pegilación en un futuro cercano y podría resultar en la expansión de la producción de nuevas terapias.

Se sabe que los medicamentos requieren una mejora en sus propiedades farmacológicas y farmacodinámicas, y la pegilación ha demostrado ser una herramienta valiosa para la modificación de moléculas de uso terapéutico (Poovi & Damodharan, 2018; Turecek et al., 2016).

Durante las últimas dos décadas este es un método que ha madurado y evolucionado rápidamente, por lo que podemos anticipar que es una herramienta robusta que permitirá no solo la modificación de moléculas terapéuticas como moléculas pequeñas y proteínas sino que también tendrá un desarrollo importante en otras modalidades terapéuticas que integran la orientación molecular, la terapia y diagnóstico en un solo acarreador (Ekladius et al., 2019).

## 4. Pegilación de acarreadores farmacéuticos

El núcleo de la investigación convencional en fármacos es el diseño de moléculas pequeñas basadas en un acto de balance de acuerdo con el principio de Paracelso “la dosis hace al veneno”; la molécula de fármaco dentro del cuerpo se difunde, una cantidad intacta suficiente llega al lugar deseado, para tener el efecto deseado sin un nivel de toxicidad inaceptable debido a la actividad fuera del blanco. Esencialmente, un fármaco es una molécula que es posible sintetizar, realiza una función específica en un tejido específico, tiene un perfil de solubilidad que permite ser llevado a la locación en la que efectúa su acción y, a su dosis eficaz, tiene un nivel de toxicidad, conocida coloquialmente como efecto

secundario, el cual es aceptable. Muchas moléculas de fármacos, que pueden ser extremadamente efectivas, una vez que llegan al blanco hay una falla en el balance y el fármaco también es muy tóxico (Bunker, Magarkar, & Viitala 2016).

Los sistemas de liberación de fármacos (DDS) son sistemas definidos que permiten la liberación de fármacos o agentes terapéuticos de forma controlada para mejorar su eficacia. Han sido muy estudiados durante las últimas décadas y se ha encontrado que sufren de una baja circulación en sangre, interacciones no específicas, degradación, baja solubilidad, un aclaramiento rápido por riñón y son muy propensos a generar anticuerpos neutralizantes. Adicional a esto, hay dificultades como el control en el perfil farmacocinético, biodistribución, ajuste en el tiempo de circulación, evitar la predominante agregación de proteínas y la rápida biodegradación prohíben más aplicaciones de las ya designadas.

Sobre todos los inconvenientes, la toxicidad y estabilidad se han convertido en los principales tópicos hablando de modificación en sistemas de liberación de fármacos.

En las últimas décadas, se han probado diferentes métodos para eludir estos problemas mejorando el sigilo de los sistemas de liberación. Estas estrategias que incluyen el control de tamaño, funcionalización específica como pH y temperatura, la capacidad de respuesta redox y enzimática resulta ser la elección prioritaria hablando de sistemas de liberación de fármacos. De cualquier manera, todos estos métodos requieren un gran esfuerzo en diseño molecular, inversión financiera y de tiempo, así como experimentos adecuados *in vitro* e *in vivo* antes de las aplicaciones reales.

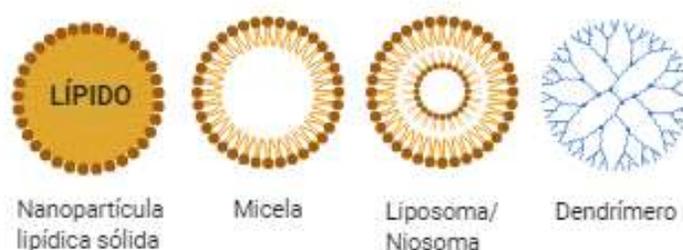
La funcionalización de la superficie de los sistemas de liberación de fármacos con moléculas hidrofílicas y neutras es uno de los enfoques destacados ya que la interacción entre los materiales externos al cuerpo y las opsoninas se rigen principalmente por fuerzas hidrofóbicas, Van der Waals, iónicas y electrostáticas. En este sentido, los polímeros juegan un papel importante. Los acarreadores poliméricos, los cuales físicamente atrapan a moléculas de interés juegan un papel importante en la tecnología farmacéutica moderna y los sistemas de liberación basado en estos y que se encuentran en el mercado actualmente contienen productos funcionalizados con PEG y ningún otro polímero sintético ha alcanzado este estatus.

La pegilación, como un método simple para unir el polímero hidrofílico polietilenglicol a una molécula terapéutica o acarreadores de fármacos, ha sido utilizada principalmente para la liberación de moléculas pequeñas, proteínas y péptidos. La conjugación simple de las cadenas de PEG de varios pesos moleculares permite la posibilidad de regular las propiedades deseadas en un sistema de liberación de fármaco y conduce a una importante contribución en la orientación de fármacos, además mejora la estabilidad en sistemas de liberación de fármacos y ha mejorado el tiempo de circulación *in vivo*. Se ha reportado que

la utilización del PEG en sistemas de liberación de fármacos se ve una mejora en la eficiencia de liberación y ha prolongado el tiempo de circulación (Abbina & Parambath, 2018; Knop et al., 2010; F. Liu et al., 2016).

Los avances en nanotecnología tienen el potencial de tener un dramático impacto en el mundo de sistemas de liberación de fármacos. Los sistemas de liberación de fármacos coloidales (CDDS) son principalmente desarrollados como una forma de liberar fármacos altamente lipofílicos, y fármacos que no son estables en ambientes biológicos. Comúnmente los CDDS incluye sistemas como nanopartículas sólidas, nanopartículas poliméricas, liposomas, micelas y dendrimeros.

En la Figura 18 se encuentran algunos ejemplos de sistemas de liberación de fármacos coloidales.



**Figura 18.** Ejemplos de sistemas de liberación de fármacos coloidales. Las pequeñas esferas sólidas representan la cabeza hidrofílica y la cadena larga representa la sección lipofílica (Howard et al., 2008).

### *Pegilación de liposomas*

Los liposomas están hechos de una o más bicapas lipídicas que consisten en diferentes o un solo lípido anfifílico ya sean cargados o neutros. Pueden contener moléculas terapéuticas como fármacos, vacunas, enzimas, proteínas, oligonucleótidos, material genético y otras biomoléculas, y han sido investigados como sistemas de liberación de fármacos para mejorar la seguridad y efectividad de fármacos. Aunque los liposomas son una manera segura y efectiva de introducir agentes terapéuticos, suelen pasar por el proceso de opsonización, lo cual remueve a los liposomas que circulan en sangre y causa una degradación de estos.

Las propiedades físicas y la eficacia *in vivo* de los liposomas pueden ser alteradas fácilmente mediante la modificación de algunas características de los lípidos como la longitud de la cadena, insaturación, composición, tamaño y potencial zeta. Un método utilizado es la modificación de la superficie de los liposomas o el camuflaje de liposomas con PEG, conocido como pegilación de liposomas, en comparación con los liposomas clásicos, los liposomas

pegilados han mostrado una mejora en la capacidad de circulación en sangre, una alta biodisponibilidad del fármaco evitando en tracto digestivo, una mínima toxicidad, hay una mejora en la estabilidad de liposomas, disminución en la unión de proteínas y una mejora en la orientación pasiva. Un número considerable de productos basados en este método se encuentran disponibles en el mercado y otros más se encuentran en avanzadas pruebas clínicas. En particular Doxil<sup>®</sup>, AmBisome<sup>®</sup> y Visudyne<sup>®</sup> han sido muy utilizados en aplicaciones clínicas en diferentes países (Abbina & Parambath, 2018; F. Liu et al., 2016).

#### *Pegilación de polimerosomas*

Comparado con los liposomas tradicionales, los polimerosomas pegilados han empoderado muchas oportunidades en la orientación de los sistemas de liberación debido a su estabilidad excepcional y sus funcionalidades específicas. Las estrategias de pegilación de polimerosomas son completamente diferentes. Dado que el contenido de hidrofobicidad del copolímero de bloque juega un papel importante en el montaje de polimerosomas, la pegilación se vuelve un proceso difícil después de la formación de los polimerosomas que podría causar cambios en la hidrofobicidad y eventualmente dominara los cambios de estructura interna a micelas. En estos casos, los polimerosomas pegilados son normalmente sintetizados con bloques anfífilos de copolímeros auto ensamblables a base de PEG. En contraste con los liposomas, los polimerosomas pegilados tienen una cadena hidrofílica de PEG más larga que puede estabilizar la estructura, y aún más importante, la unión covalente con el PEG asegura la estructura ensamblada desde un nivel molecular y proporciona una mejor formación de estructura interna. Algunos otros polimerosomas pegilados funcionalizados también han sido desarrollados, tales como aquellos con respuesta a pH, temperatura, polimerosomas biodegradables y todos ellos son altamente interesantes para la liberación de fármacos (F. Liu et al., 2016).

#### *Pegilación de micelas*

Diferente a la estructura interna de los liposomas y polimerosomas, las micelas también tienen sus aplicaciones biomédicas debido a la estructura hidrofóbica-hidrofílica. Además, debido a las propiedades hidrofílicas del PEG, las coronas fuera de los núcleos hidrofílicos son los únicos sitios para la pegilación. Teóricamente, la pegilación de las micelas se puede lograr antes y después del proceso de autoensamblaje. Su estructura de núcleo-carcaza es favorecida entálpicamente para minimizar la energía de interfase hidrofílico e hidrofóbico y por lo tanto muestra una mejor estabilidad comparado con los polimerosomas. Y más importante, el gran espacio localizado en las coronas de hidrofiliidad permite la pegilación con varios pesos moleculares y resulta en diferentes tamaños hidrodinámicos. Además, el diseño de la pegilación puede no solo resultar en ajustes en la funcionalización, tales como

respuesta a pH o temperatura, sino que también le permite al sistema ser controlado de manera precisa en vías de circulación y excreción (F. Liu et al., 2016).

### *Pegilación de nanopartículas*

Para muchos fármacos las nanoestructuras traen muchas ventajas en comparación con otros sistemas de liberación convencionales. En primera, debido a que poseen un tamaño pequeño y capacidad de ser dirigido, pueden proveer una liberación sitio-específica, incrementando la concentración local y disminuyendo la toxicidad sistémica (Howard et al., 2008).

Hay algunas razones importantes para hacer acarreadores de fármacos de larga circulación. La circulación prolongada puede ayudar a mantener el nivel adecuado del agente farmacéutico en la sangre por intervalos extendidos de tiempo y para lograr un mejor direccionamiento para acarreadores de fármacos direccionados para proveer un mayor tiempo de interacción con el sitio blanco. En sistemas de liberación nano, las nanopartículas de larga circulación cargadas con fármaco pueden acumularse lentamente en sitios patológicos con vasculatura afectada y facilita la liberación de fármaco en esas áreas. También se ha reconocido que la masa de PEG unido es importante para determinar el tiempo de permanencia en sangre. La masa requerida puede alcanzarse mediante la adición de pequeñas cadenas de PEG a la proteína, o de manera alternativa una cadena de PEG de mayor masa.

Las nanopartículas en un rango de 50 a 100 nm se recubren con PEG de longitudes pequeñas (3400 a 10,000) porque mayores aumentos en el radio hidrodinámico podrían disminuir el tiempo de vida media (Poovi & Damodharan, 2018).

#### 4.1. Historia

La aplicación de los materiales poliméricos con fines médicos ha crecido rápidamente. Su aplicación va desde sistemas de liberación de fármacos, desarrollo de andamios en ingeniería de tejidos, implantación de dispositivos médicos y órganos artificiales, prótesis, oftalmología, odontología, reparación de huesos y en otros campos médicos. En formulaciones los polímeros tienen el papel de controlar la velocidad de liberación de los fármacos. Las diversas aplicaciones que tienen los polímeros se deben a las propiedades únicas de estos que no se han conseguido con otros materiales. Una consideración apropiada de las propiedades de la superficie y volumen puede ayudar en el diseño de polímeros para su aplicación en la liberación de fármacos (Gandhi, Deshmane, y Biyani 2012).

El efecto de la cobertura de las superficies con PEG en la farmacocinética de microesferas de poli (ácido láctico-co-glicólico), fue reportada en 1994 por Gref y sus colaboradores, los

autores demostraron que el 66% de las partículas sin recubrimiento fueron eliminadas por el hígado únicamente 5 minutos después de su administración, mientras que menos del 30% de nano esferas recubiertas con PEG de 20 kDa fueron capturadas por el hígado 2 horas después de su administración. Este estudio introdujo la base del uso de PEG en tecnologías de microesferas, cuya historia había comenzado en los años 50.

Los liposomas han sido conocidos desde los inicios de los años 60 como un sistema de liberación de fármaco versátil. Un mayor desarrollo ocurrió en 1990 cuando diferentes grupos de investigación reportaron que la combinación de la tecnología de liposomas y pegilación mediante la unión de una capa de PEG con conformación de peine a acarreadores liposomales cambian drásticamente los tiempos de circulación en sangre. Por ejemplo, Kilbanov con su equipo de investigación pudo demostrar que los liposomas convencionales fueron totalmente eliminados de la sangre después de 5 horas, mientras que el 49% de los liposomas pegilados estéricamente estabilizados aún seguían circulando en la sangre a las 5 horas.

El uso de polímeros anfifílicos como formadores de micelas como vehículos de sistemas de liberación de fármacos fue propuesto por Ringsdorf en los años 70. Finalmente, se impulsó el desarrollo de micelas de copolímeros de bloques que contienen PEG para acarreadores de fármacos. Este progreso llevó al desarrollo de estructuras anfifílicas dendríticas y en forma de estrella, los cuales exhiben un mejor control sobre la arquitectura, tamaño, forma y funcionalidad de la superficie de las micelas a un costo de una mayor complejidad comparados con un bloque de copolímeros lineal.

El enorme progreso logrado durante las últimas dos décadas en terapia génica estimuló el desarrollo de vectores eficientes para transfección génica, pero esto requería que el polímero tuviera propiedades especiales debido a la carga natural del ADN. La carga catiónica de los vectores no virales la cual es necesaria para la interacción electrostática con el ADN negativamente cargado es responsable de la toxicidad y una baja vida media de los acarreadores en el cuerpo. La pegilación de acarreadores de genes resultó en un decremento en la disposición en el hígado al igual que una baja toxicidad inicial comparada con complejos no modificados. Esta influencia positiva está relacionada con una interacción con los componentes de la sangre disminuida, una baja tendencia de los complejos a agregarse y, por lo tanto, una baja tasa de filtración mediante capilares pulmonares. Los acarreadores pegilados también están caracterizados por una lenta captación por parte de órganos (hígado y bazo) del sistema fagocítico mononuclear.

Los fármacos, liposomas, y nano acarreadores pegilados están caracterizados por una filtración renal reducida, un decremento en la recepción por el sistema reticuloendotelial y una disminución en la degradación enzimática (Knop et al., 2010).

#### 4.2. Ventajas

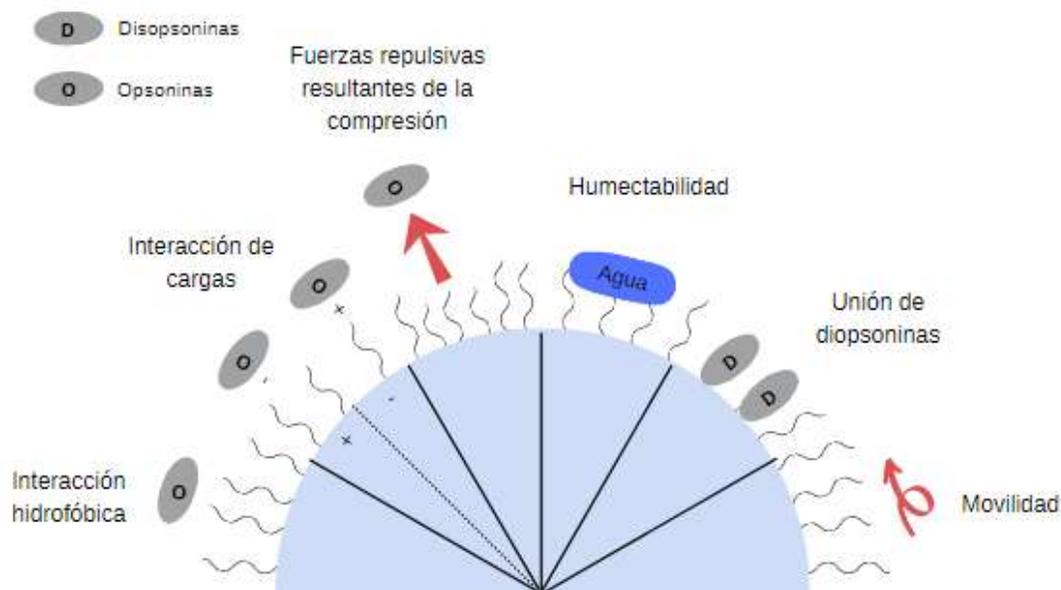
El polietilenglicol ha sido usado de manera extensa para mejorar el desempeño de moléculas terapéuticas y/o microacarreadores y nanoacarreadores. La incorporación de PEG a sistemas de liberación de fármacos ha sido utilizada como una estrategia para mejorar el perfil farmacocinético de formulaciones particulares. Muchos otros beneficios que se han observado después de la pegilación de moléculas y sistemas de liberación de fármacos incluyen una mejora en la estabilidad de las nanopartículas, que son sistemas que tienen mucha energía en la superficie y tienden a agregarse, mejora la difusión de las nanopartículas en el ambiente biológico y mejora las características fisicoquímicas y el perfil de biocompatibilidad de los sistemas de liberación de fármacos.

Las cadenas flexibles de PEG tienen la capacidad de hidratarse, lo cual da lugar al incremento del volumen. Esto sustenta el fenómeno de la estabilización estérica, que reduce la interacción inespecífica con proteínas y células, reduciendo a su vez la adsorción de proteínas plasmáticas en la superficie de los nanoportadores y, por lo tanto, la absorción por el sistema fagocítico mononuclear. Mediante la reducción del proceso de opsonización y reconocimiento por parte de monocitos y macrófagos, la superficie pegilada de los nanoacarreadores provee un comportamiento sigiloso e incrementa el tiempo de circulación, con la ventaja de reducir la dosis y frecuencia de administración que incluye una disminución de los efectos adversos. El efecto sobre el tiempo de circulación es altamente dependiente del peso molecular del PEG, la arquitectura de las cadenas de PEG y la densidad superficial, los cuales también determinan la conformación que adoptan las cadenas de PEG en la superficie.

En adición a la mejora de la farmacocinética como resultado de la pegilación, la cobertura de la superficie de los nanoacarreadores es una estrategia importante para preservar la capacidad orientadora de acarreadores funcionalizados (Vllasaliu et al., 2014).

Se han propuesto diversas teorías que explican porque el PEG incrementa la sigilosidad de acarreadores. Las explicaciones simples incluyen la reducción de carga en la superficie y/o la hidrofobicidad y, por lo tanto, una disminución en las fuerzas de atracción entre los acarreadores y las opsoninas. Sin embargo, otras moléculas hidrofílicas han sido usadas como recubrimiento y han fallado en producir resultados similares al PEG. Otra teoría propone que el movimiento de las largas cadenas de PEG previene que las proteínas interactúen con la superficie de los acarreadores. Por otro lado, las cadenas de PEG que son

altamente flexibles son capaces de mantener moléculas de agua fuera de la capa del polímero creando una nube de agua impermeable a las proteínas. Finalmente algunas teorías apuntan a la presencia de proteínas llamadas disopsoninas que se unen a la superficie de los acarreadores y suprimen la fagocitosis (Howard et al., 2008).



**Figura 19.** Mecanismos por los cuales el PEG previene de la unión de proteínas a sistemas acarreadores pegilados.

### 4.3. Mecanismos

El recubrimiento de la superficie de sistemas acarreadores con polietilenglicol, conocido también como pegilación de acarreadores, se puede llevar a cabo con los métodos de adsorción, injerto o atrapamiento, y se ha convertido en el método de elección para mejorar la biocompatibilidad de acarreadores (Howard et al., 2008).

El sometimiento de los materiales a la radiación ionizante puede generar cambios como injerto de PEG o la preparación de nanopartículas poliméricas dependiendo de las condiciones de radiación seleccionadas (Güven, 2016).

#### 4.3.1. Recubrimiento de la superficie

Un recubrimiento adecuado de las partículas debe lograrse para bloquear la adsorción de proteínas. El recubrimiento ideal se ha descrito como un intermedio entre las configuraciones de PEG de “hongo” y “cepillo”. La conformación de “hongo” se caracteriza por cubrir una baja porción de la superficie, dejando algunas áreas disponibles para la unión

de proteínas. La configuración de “cepillo” se caracteriza por cubrir una gran porción de la superficie, que teóricamente podría conducir a una restricción en la flexibilidad de las cadenas de PEG y un potencial decremento en sus propiedades de restricción estérica. Muchos estudios han demostrado que la configuración de hongo provee una repulsión de opsoninas más efectiva, esto podría atribuirse a la incapacidad de para alcanzar una densidad suficientemente alta que limite la flexibilidad de las cadenas de PEG.

La cobertura de la superficie puede ser controlada a través del peso molecular del PEG, la densidad de las cadenas y la conformación de las cadenas. El estudio de la cobertura de superficies han demostrado que la densidad de la superficie es más importante que el peso molecular de las cadenas de PEG, hay un mínimo en el peso molecular de las cadenas de PEG que las hace efectivas debido a que en cadenas cortas hay una pérdida de flexibilidad e hidratación, las cadenas de PEG lineares mayores a 5 kDa raramente proveen buenos resultados y por lo contrario incrementa la adsorción de proteínas debido a la inhabilidad de obtener una alta densidad en la superficie, por último, las cadenas de PEG ramificadas son menos efectivas para prevenir la adsorción en comparación con las cadenas lineares.

Generalmente, las cadenas lineares de 1500 a 5000 Da proveen una sigiloidad efectiva. La longitud exacta necesaria dependerá de la curvatura de la superficie y de otras fuerzas de atracción y como regla general se ha recomienda una capa con un grosor del 5 – 10% del diámetro de la partícula (Howard et al., 2008).

#### 4.3.1.1. Conformaciones del PEG

La conformación que adquiere el polímero puede ser descrito en términos del radio de Flory (F) de acuerdo con la ecuación 1, donde n es el número de monómeros por cadena de polímero y  $\alpha$  es la longitud de un monómero en Angstroms ( $\alpha = 3.5 \text{ \AA}$  para PEG).

$$F = \alpha n^{3/5} \quad \text{Ecuación 1}$$

Hay dos principales conformaciones que el PEG puede adquirir dependiendo de la densidad de injerto. Si la densidad de la superficie es baja (i. e., la distancia D entre los puntos de unión del polímero y la superficie es más larga que el radio de Flory,  $D > F$ ), las cadenas de polímero pueden adquirir una conformación de hongo. Para densidades mayores de injerto ( $D < F$ ), el polímero puede adquirir una conformación de cepillo, con largas, finas cerdas de PEG extendiéndose desde la superficie de las nanopartículas. El número de unidades repetidas necesarias para la transición de la conformación de hongo a la de cepillo es altamente dependiente del tipo de PEG y de la partícula. Se ha reportado que la conformación de hongo pasa a ser de cepillo cuando la distancia entre las moléculas individuales de PEG en la superficie es cercana al radio de Flory. Las nanopartículas con PEG en conformación de hongo

generalmente tienen un tiempo de circulación mayor ya que los recubrimientos más densos protegen mejor del sistema fagocítico mononuclear (Poovi & Damodharan, 2018).

El grado de grosor de la capa de PEG depende del peso molecular, su conformación, y densidad de injerto de PEG. El grosor del injerto determina la absorción de las proteínas lo cual determina el destino de los sistemas de liberación de fármacos. El tipo de conformación está definida por tres parámetros que son 1) el radio de Flory, 2) longitud de extensión del PEG, y 3) distancia entre las moléculas de PEG. La densidad de la superficie de injerto de PEG incrementa debajo de su “punto de enturbiamiento” donde los solvatos marginales de las moléculas de PEG dan resultado en una repulsión de cadena reducida y aumento de la densidad. Conforme aumenta la densidad del PEG, la distancia entre las moléculas de PEG alcanza el radio de Flory con una libertad de conformación reducida, incrementando las interacciones intermoleculares, y así adopta una conformación de cepillo extendido. El fenómeno aumenta hasta que la longitud de extensión es mayor a 2 veces el radio de Flory y se forma finalmente una conformación de cepillo compacto y este corresponde al PEG unido a la superficie. Estos se extienden en una dirección normal a la superficie de injerto. Encima del “punto de enturbiamiento” el PEG tiene una densidad de injerto baja y adquiere una conformación de hongo (D’souza & Shegokar, 2016).

#### 4.3.2. Injerto de PEG

Un método común para unir cadena de PEG a la superficie de sistemas de liberación de fármacos coloidales es la adsorción a la superficie. Esto se puede realizar mediante el uso de PEG lineal, sin embargo, con ese método hay interacciones no covalentes que, generalmente, son débiles y no aseguran la cobertura completa de la partícula, por esta razón se han añadido poloxámeros (bloque de copolímero no iónico compuesto por una cadena central hidrofóbica flanqueada por dos cadenas hidrofílicas) y poloxaminas donde las cadenas hidrofóbicas se insertan en la partícula hidrofóbica y las cadenas hidrofílicas se orientan hacia el ambiente acuoso.

Los primeros estudios de injertos se basaron en fisio-sorción, pero ahora es reemplazada por “injerto sobre” (grafting-to) o “injerto desde” (grafting-from). El “injerto sobre” se trata de una serie de reacciones químicas de las superficies que contienen polímeros preformados y funcionalizados. El “injerto desde” son polímeros sintetizados *in situ* de monómeros. El “injerto desde” genera polímeros con conformación de cepillo de una densidad alta a diferencia del método de “injerto sobre” (D’souza & Shegokar, 2016; Howard et al., 2008).

#### 4.3.3. Radiación ionizante

La irradiación de polímero con energías muy altas de partículas (electrones acelerados, iones pesados veloces) u ondas electromagnéticas (rayos X y  $\gamma$ ) permite la formación de

intermediarios reactivos en su forma excitada, iones y radicales libres, estas reacciones pueden ser utilizadas sobre materiales sólidos, líquidos o gases y debido a que son energías no selectivas se generan radicales libres de manera homogénea. El efecto que tienen estas reacciones son entrecruzamiento y/o escisión de cadenas principales o laterales, formación de productos oxidados e injerto. El grado de dominancia de estas transformaciones depende de la naturaleza del polímero y las condiciones de tratamiento antes, durante y después de la irradiación.

La exposición de los polímeros a altas energías puede generar radicales libres que sirven como sitios de injerto. Estos radicales reaccionan fácilmente para generar enlaces covalentes sin necesidad de iniciadores químicos. Este proceso tiene también una ventaja ecológica ya que permite el ahorro de energía y la limita la emisión de compuestos orgánicos volátiles.

La síntesis de nanopartículas también puede lograrse a través de este método, para la preparación de nanopartículas poliméricas mediante la irradiación de monómeros se debe hacer uso de técnicas de polimerización por dispersión o emulsión.

Con el método convencional de polimerización por emulsión los materiales que se deben usar son agua, un monómero insoluble en agua, un iniciador soluble en agua y un surfactante. En cambio, en el método con irradiación no hay necesidad de usar iniciadores ya que los monómeros son transformados a los radicales que iniciaran las reacciones (Güven, 2016).

#### 4.4. Ejemplos

Los medicamentos formulados como liposomas son reconocidos como los sistemas de liberación de fármacos comerciales más exitosos los cuales fueron formulados para resolver los efectos adversos de los medicamentos convencionales.

Los estudios realizados sobre la pegilación de los liposomas fueron la base para el producto Doxil®, el cual fue aprobado en 1995 por la FDA. Es un liposoma que encapsula a la doxorubicina usado para el tratamiento de diferentes tipos de cáncer desde el cáncer de ovario, cáncer de seno, sarcoma de Kaposi y mieloma múltiple, cuyo tamaño va de los 80 a 90 nm. El objetivo de su pegilación fue aumentar el tiempo de circulación mejorando la biodisponibilidad del fármaco (Farjadian et al., 2019; Knop et al., 2010).

AmBisome® es un medicamento conformado por anfotericina B liposomal pegilada, usado para el tratamiento de hongos patógenos oportunistas. Es una formulación que presenta baja toxicidad y una alta estabilidad en circulación. Fue desarrollado por NeXstar Pharmaceuticals y fue aprobado en 1997 por la FDA (Y. Liu et al., 2020; Stone et al., 2016).

Las micelas poliméricas, que son nanoestructuras formadas por el auto ensamble de bloques de copolímeros anfífilicos también han sido utilizadas como acarreadores para fármacos antitumorales, un ejemplo es el Genexol-PM<sup>®</sup> desarrollado por Samyang Corporation, es una micela polimérica compuesta por PEG y polilactida (PLA) que contiene paclitaxel que es un quimioterapéutico. En la tabla 9 se encuentran las características resumidas de estos productos (Cheng & Pun, 2015).

**Tabla 9.** Nanoacarreadores pegilados clínicamente aprobados (Howard et al., 2008).

Fármaco	Nombre comercial	Acarreador	Compañía	Vía de administración	Tiempo de vida media (hr)
Doxorubicina	Doxil/Caelyx <sup>®</sup>	Liposoma	Ortho Biotech	Intramuscular	55
Anfotericina B	AmBisome <sup>®</sup>	Liposoma	NexStar Pharmaceuticals	Intravenosa	152
Paclitaxel	Genexol-PM <sup>®</sup>	Micela polimérica	Samyang	Intravenosa	15

#### 4.5. Caracterización de acarreadores pegilados

##### *Métodos cualitativos*

La técnica más simple y común para una evaluación cualitativa de acarreadores pegilados es la medida del potencial zeta. El recubrimiento de la superficie con PEG afecta el potencial zeta de los acarreadores y dependerá del agente pegilante. Hay cierta validez para realizar esta evaluación como una prueba rápida de pegilación, sin embargo, tiene algunas limitaciones como la incapacidad de medir el potencial zeta en sistemas que tienen baja carga en la superficie.

Otro método utilizado para la caracterización de acarreadores pegilados es la comparación de coeficientes de cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC). Este método involucra la medición de la hidrofobicidad/hidrofilicidad superficial de una partícula. Las partículas se aplican a la columna la cual posteriormente se lava dos veces. El primer lavado sirve para eluir a las partículas más hidrofílicas y el segundo lavado para eluir a las partículas más hidrofóbicas. Para calcular el coeficiente de HIC se usa la ecuación 2.

$$\text{Coeficiente HIC} = \frac{\text{AUC pico de elución}}{\text{AUC pico lavado}} \times 100$$

## Ecuación 2

Las partículas más hidrofílicas presentan un coeficiente mayor. De esta manera, cuando los coeficientes son usados para su comparación entre estructuras pegiladas y no pegiladas, obtener información sobre el grado de pegilación y su localización en la superficie de las partículas. Sin embargo, este método también tiene sus limitaciones. No es un método cuantitativo y no puede ser usado con partículas que no tengan una superficie altamente hidrofóbica. Tampoco puede ser usado por si solo para predecir el comportamiento *in vivo* del sistema.

El uso de la región espectral del infrarrojo cercano acoplado al análisis de componentes principales ha permitido la caracterización del equilibrio hidrofílico/hidrofóbico de nanopartículas con el propósito de confirmar la pegilación. El análisis de componentes principales es una herramienta estadística usada para explicar la causa de la varianza en los datos (Howard et al., 2008).

### *Métodos cuantitativos*

La cantidad de PEG asociada a acarreadores puede ser calculada si se realiza un análisis con cromatografía líquida de alta eficiencia y este método puede estar acoplado a otras técnicas como detección del índice de refracción, espectrometría de masas y detección de luz evaporativa para determinar también la localización del PEG sobre las partículas.

Las pruebas colorimétricas también son utilizadas para determinar la concentración y localización de las cadenas de PEG. Mediante la comparación de la concentración de PEG medido antes y después de una hidrólisis alcalina de las nanopartículas usando el método del complejo de yoduro de potasio, es posible determinar si el PEG está localizado en la superficie de las partículas.

Con la espectroscopía de fotoelectrones de rayos X se puede caracterizar la superficie de las partículas y también permite cuantificar. Esta técnica está basada en el efecto fotoeléctrico y es usada para obtener la composición elemental de la superficie. Para validar la presencia de PEG en la superficie de los acarreadores se obtiene el espectro antes y después del proceso de pegilación (Howard et al., 2008).

Con la dispersión dinámica de luz se pueden evaluar tres características importantes de las nanopartículas pegiladas finales que son el tamaño de la nanopartícula, el potencial zeta y la

distribución de tamaño. El descriptor zeta es utilizado para medir el potencial electrostático que existe entre el plano de corte de la nanopartícula y el solvente y provee información respecto a la estabilidad coloidal de la nanopartícula. La distribución de tamaño puede ser utilizada para medir la homogeneidad del producto final (Poovi & Damodharan, 2018).

#### *Caracterización In vitro e In vivo*

Los métodos *in vitro* incluyen la determinación de adsorción de proteínas, consumo del complemento, estudio de fagocitosis por macrófagos, velocidad de liberación o estabilidad del contenido. Para medir el nivel de adsorción de proteínas en nanoacarreadores existe una variedad de métodos, los métodos de electroforesis permiten realizar pruebas con un gran rango de proteínas, considerando que la visualización mediante microscopio electrónico y la incubación con proteínas marcadas radiactivamente seguido de una cromatografía de permeación en gel para su separación depende del uso del modelo de proteína elegido.

Los estudios de captación por células son comúnmente usados ya que dan información sobre qué tan rápido podrían ser capturados los acarreadores por el sistema fagocítico mononuclear. Debido a que la pegilación en acarreadores se realiza no solo para proveer sigilosis sino también para mejorar su estabilidad se realizan estudios de tasa de liberación y/o estabilidad del contenido en solución o plasma para obtener información de que grado de pegilación será suficiente para su acción *in vivo*.

La mayoría de los estudios *in vivo* incluyen un perfil farmacocinético y estudios de distribución en tejidos. Si la pegilación es suficiente en los acarreadores se observara un incremento en el tiempo de circulación y una disminución en la captura por el hígado comparado con las partículas no pegiladas (Howard et al., 2008).

El análisis termogravimétrico mide el cambio en el peso en función al incremento de temperatura que se traduce como la pérdida de PEG (Poovi & Damodharan, 2018).

#### 4.6. Perspectivas

Aunque las técnicas de pegilación de sistemas de liberación de fármacos han sido desarrollados de una manera satisfactoria, aún hay retos que superar. La primera preocupación es la polidispersidad del PEG en términos de peso molecular. Como una macromolécula sintética, el PEG naturalmente está compuesto por cadenas de polímero con unidades repetidas que siguen una distribución Gaussiana.

Por otro lado, el PEG con diversos pesos moleculares puede resultar en diferentes tamaños hidrodinámicos y peso molecular neto, lo cual influye en su vía de metabolismo y tiempo de excreción. El PEG pasa por un aclaramiento renal para ser excretado mediante la orina

cuando su peso molecular es de 30 kDa pero los PEGs de peso molecular mayor puede resultar en una acumulación en hígado y es eliminado mediante el excremento. Los sistemas de liberación pegilados tienen un tamaño hidrodinámico exagerado, lo que implica un reto en los diseños de pegilación debido a la incertidumbre respecto a su excreción y vías de circulación.

Otra cuestión por tratar es que las unidades repetidas de etilen glicol pueden ser degradadas gradualmente *in vivo*, aunque estén unidas covalentemente. Se ha reportado que el citocromo P450 y enzimas deshidrogenasas pueden degradar al PEG y a sistemas de liberación de fármacos pegilados, lo cual abre un campo de investigación y desarrollo de estudios para obtener información concluyente al respecto.

También hay que considerar que la adsorción de opsoninas al acarreador se elimina mediante la pegilación, pero eventualmente las proteínas del plasma se unirán a los acarreadores de manera que terminarán en hígado para su eliminación y esto podría representar un problema para algunos sistemas dependiendo de su objetivo en el organismo.

Otro reto para los acarreadores es la alta variabilidad en algunos resultados reportados. Esto se puede explicar por el uso de diferentes acarreadores compuestos de diferentes materiales. El diseño experimental también contribuye a la variabilidad, esto es debido a que se usan diferentes líneas celulares para las pruebas *in vitro* y los modelos animales usados, que generalmente son ratones, ratas y conejos, tienen diferentes niveles y mecanismos de captura de acarreadores.

Algunas otras situaciones que pueden contribuir a la variabilidad en resultados es que la cobertura de sistemas no sea homogénea, que se emplee PEG de diferentes productoras para los estudios tomando en cuenta que cada producto contiene PEG en un rango determinado de pesos moleculares.

Sin embargo, estos retos motivan el estudio de la técnica de pegilación ya que ha permitido mejoras e incluso la introducción de nuevos productos que han favorecido a los pacientes ya que disminuyen la toxicidad y la frecuencia de dosis de los fármacos. De igual manera hace falta profundizar en estudios que permitan la caracterización del PEG en las superficies sin tener limitaciones en el estudio.

En general, la pegilación de acarreadores de fármacos es un atractivo sistema de modificación de acarreadores ya que es un método de modificación sencillo y simple para la liberación de moléculas terapéuticas. Muchos estudios han generado resultados importantes para entender el proceso de pegilación y el diseño de acarreadores para aplicaciones *in vivo* e *in vitro*. La conjugación del PEG con los acarreadores ha traído muchas

oportunidades para su aplicación con una prometedora mejora en la farmacocinética y farmacodinámica en los tratamientos clínicos.

Además de la liberación de fármacos, muchas otras aplicaciones pueden ser de interés en el futuro, tal y como el bio-diagnóstico, sensorización nano e imagen. Adicional a esto, la diversidad en la estructura de PEG provee más posibilidades para que se entienda la importancia de la configuración estérica en el diseño de acarreadores. Existen estudios reportados con acarreadores ramificados pegilados y sistemas dendriméricos pegilados. Estos nuevos sistemas tienen una estabilidad superior y monodispersidad que puede mejorar potencialmente la homogeneidad estructural y la eficacia en los sistemas de acarreamiento. Acorde con las brillantes aplicaciones a futuro de las nanopartículas pegiladas, especialmente la liberación de fármacos, más investigaciones están enfocadas en la funcionalización de estas partículas con una habilidad de orientación. La incorporación con vectores orientadores, tales como ácido fólico, ligandos y genes que tienen interacciones específicas con células tumorales pueden mejorar las aplicaciones de nanopartículas pegiladas. Otro beneficio que puede obtenerse a través de esta funcionalización es prolongar la vida media de los vectores, ya que se ha demostrado que estos vectores orientadores son extremadamente sensibles al ambiente, especialmente en el plasma (Howard et al., 2008; F. Liu et al., 2016).

## 5. Vacuna COVID-19 pegilada

El brote de la enfermedad respiratoria pulmonar en diciembre de 2019 que llevó a la OMS a declarar pandemia mundial. A partir de este hecho, las empresas y centros universitarios comenzaron el desarrollo de una nueva vacuna.

El estudio y desarrollo de vacunas basadas en mRNA han sido la elección ya que, a diferencia de sistemas virales y de proteínas, la fabricación de mRNA es libre de células, rápido y el producto proteico tiene glicosilación nativa y propiedades conformacionales. Cuando el mRNA se combina con nanopartículas lipídicas (NPL) como sistema de liberación las propiedades son similares a las de los sistemas virales. Adicionalmente, la transcripción *in vitro* es sencilla y tiene un enorme potencial de fabricación escalable y de bajo costo (Buschmann et al., 2021; Dai & Gao, 2021).

Este tipo de vacuna se considera más segura ya que, al no utilizar virus completos atenuados o inactivados, no pueden transmitir la infección viral. Existen dos tipos de vacunas de mRNA, las auto replicantes (o auto amplificadas) y las no replicantes. Las vacunas de Pfizer/BioNTech y Moderna son de tipo no replicantes. La vacuna de Moderna está basada en mRNA estabilizado que codifica la proteína viral “spike”, y la vacuna BNT162b2 de Pfizer está basada en ARN mensajero con nucleósidos modificados del virus SARS-CoV-2.

En este tipo de vacuna el mRNA se envuelve en una cápsula protectora, como nanopartículas lipídicas, que lo protegerá de su rápida degradación. Para que las nanopartículas cumplan su función deben alcanzar su objetivo terapéutico sin ser reconocidas por el organismo como extrañas y ser eliminadas. Para reducir el proceso de aclaramiento las nanopartículas se pueden someter al proceso de pegilación (Blakney & Geall, 2021; Dai & Gao, 2021, Xu et. al., 2020).

En la tabla 10 se encuentran resumidos los componentes químicos y características de cada vacuna (Khurana et al., 2021).

**Tabla 10.** Principales características de las vacunas de Pfizer-BioNTech y Moderna (Khurana et al., 2021).

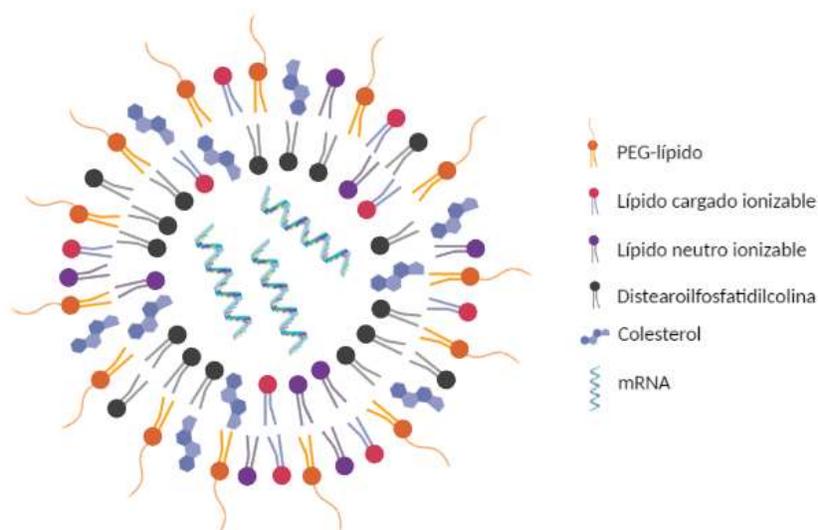
Características	Pfizer-BioNTech (BNT162b2)	Moderna (mRNA-1273)
Ingrediente activo: mRNA	RNA mensajero con nucleósidos modificados que codifican para la proteína viral “spike”	RNA mensajero sintético que codifica para la proteína viral “spike”
Grasas: Recubren y protegen al mRNA	Colesterol 2-[(polietilenglicol)-2000]-N,N-ditetradecil acetamida  ((4-hidroxibutil) azanodil) bis(hexano-6,1-diol) bis(2-hexildecanoato)  1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfocolina	Colesterol  Esfingomielina-102(SM-102)  Polietilenglicol 2000 dimiristoil glicerol  1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfocolina
Solución salina: Mantiene el pH cercano al pH corporal	Fosfato de sodio dibásico dihidratado  Potasio monobásico  cloruro de potasio  Fosfato  Cloruro de sodio  Sacarosa	Ácido acético  Acetato de sodio  Sacarosa  Trometamina  Clorhidrato de trometamina

**Tabla 10.** Principales características de las vacunas de Pfizer-BioNTech y Moderna (Continuación) (Khurana et al., 2021).

Características	Pfizer-BioNTech (BNT162b2)	Moderna (mRNA-1273)
Temperatura de almacenamiento	-80 a -60 °C	-25 a -15 °C
Estabilidad	Estable por 6 meses a -80 °C y por 5 días a 2-8 °C	Estable por 6 meses a -20 °C y por 30 día a 2-8 °C
Eficacia en estudios clínicos fase III	95%	94.5%

Generalmente, para el acarreamiento de ácidos nucleicos, se usan polímeros catiónicos como poli(L-lisina), polietilenimina, dietilaminoetil-dextrano, poli( $\beta$ -aminoésteres) (PBAE) y quitosano. Los PBAEs pueden ser formulados con polietilenglicol y lípidos para formar nanopartículas lipídicas de mRNA/PBAE/PEG y se ha determinado que son capaces de llegar a pulmones después de una administración intravenosa en ratones, por lo tanto, se consigue una mayor potencia y estabilidad del mRNA (Kaczmarek et al., 2016).

La formulación desarrollada para siRNA con el lípido MC3 es la base de las nanopartículas lipídicas, ilustradas en la Figura 20, que ahora están en uso bajo emergencia para el desarrollo de la vacuna COVID-19.



**Figura 20.** Estructura de una nanopartícula lipídica que contiene mRNA (Buschmann et al., 2021).

Los métodos actuales para la producción de NPLs de mRNA utilizan microfluídica o mezclas por cruce en T para mezclar rápidamente la fase de etanol que contiene los lípidos hidrofóbicos y la fase acuosa que contiene al mRNA en un buffer. La microfluídica tiene la ventaja de ser capaz de mezclar volúmenes muy pequeños de lípidos en etanol con mRNA en solución acuosa. Por otro lado, la mezcla por cruce en T es el método general de elección para la producción a gran escala de NPLs con mRNA. Algunos estudios han demostrado que mediante los dos métodos se pueden obtener NPLs de tamaño y morfología similar.

El ensamble de las NPLs es dirigido por fuerzas hidrofóbicas y electrostáticas. Los cuatro lípidos (lípidos ionizables, colesterol, PEG-lípido y distearoilfosfatidilcolina) inicialmente son solubles en etanol. Un volumen de solución de etanol que contiene lípidos se mezcla con tres volúmenes de mRNA en un pH de 4 en buffer de acetatos y cuando los lípidos entran en contacto con la fase acuosa se vuelven insolubles. Mientras los lípidos se vuelven insolubles se forma la nanopartícula lipídica que encapsula al mRNA en una suspensión principalmente acuosa. Un componente clave en este proceso es el PEG-lípido ya que las cadenas de PEG son hidrofílicas y recubren a la partícula determinando también su estabilidad (Buschmann et al., 2021).

A pesar de que la pegilación ha sido un método exitoso en la formulación de nanopartículas, se han reportado la presencia de anticuerpos que reconocen y se unen específicamente a PEG, la existencia de estos anticuerpos se ha correlacionado con la pérdida de eficacia terapéutica y el aumento de los efectos adversos, sin embargo, aún es un campo abierto a la investigación para determinar su efecto en la eficacia de las vacunas (P. Zhang et al., 2016).

## Conclusiones

Este Trabajo Monográfico de Actualización permite una recopilación de información acerca de la tecnología del acoplamiento de polietilenglicol con moléculas terapéuticas y con acarreadores farmacéuticos, analizando los progresos que el método ha tenido, las ventajas teóricas y comerciales, y su importante aplicación en la industria farmacéutica.

A lo largo de los años el desarrollo de formulaciones que sean efectivas, con un tiempo de circulación en sangre prolongado y con la menor cantidad de efectos adversos se han convertido en los principales objetivos, para mejorar estos aspectos se han implementado nuevas tecnologías. El estudio y análisis del comportamiento de moléculas terapéuticas pegiladas ha demostrado que es una herramienta que mejora el perfil farmacodinámico y farmacocinético de las moléculas, las mejoras principales son la extensión del tiempo de circulación, lo cual disminuye la cantidad de veces que se deba administrar el medicamento,

mejora la estabilidad de la formulación y disminuye la inmunogenicidad, disminuyendo a su vez los efectos adversos.

Actualmente en el mercado se encuentran más de 20 productos pegilados aprobados por la FDA y más de 10 productos en desarrollo clínico, tras la evaluación toxicológica de los productos se ha determinado que los efectos toxicológicos encontrados derivan de la molécula activa y no de las moléculas de PEG.

De igual manera, el desarrollo de acarreadores ha ayudado a proteger y orientar a las moléculas terapéuticas, sin embargo, también sufren de rápida eliminación por lo que la combinación de las tecnologías de sistemas de acarreadores de fármacos y pegilación parece ser un avance prometedor en la industria farmacéutica.

No hay duda en que su aplicación como agente que permite el sigilo de moléculas y acarreadores farmacéuticos ha permitido el desarrollo de formulaciones que sirvan como terapia en enfermedades crónicas, cáncer e incluso, en el año 2020 ha permitido que el desarrollo de vacunas con mRNA sea posible, dado que el mRNA se encuentra en nanopartículas que requieren de una protección para llegar a las células blanco y generar anticuerpos, dando lugar a la producción en masa de la vacunas de Pfizer/BioNTech y Moderna para su aplicación alrededor del mundo, en este aspecto cabe resaltar que es necesario el estudio continuo de las reacciones que podría causar el contenido de PEG en la formulación.

Adicionalmente, el método que parece ser el ideal para la fabricación de productos pegilados es la radiación ionizante, ya que es un método que no requiere de condiciones muy especiales ni de iniciadores químicos evitando que se generen productos no deseados después de la pegilación, además de ser un método fácil y rápido.

## Bibliografía

- Abbina, S., & Parambath, A. (2018). PEGylation and its alternatives: A summary. *Engineering of Biomaterials for Drug Delivery Systems*. 363-376.
- Alcantar, N. A., Aydil, E. S., & Israelachvili, J. N. (2000). Polyethylene glycol-coated biocompatible surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of the Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 51(3), 343-351.
- Ashfaq, A., Clochard, M., Coqueret, X., Dispenza, C., Driscoll, M., Ulanski, P., & Al-Sheikhly, M. (2020). Polymerization reactions and modifications of polymers by ionizing radiation. *Polymers*, 12(12), 2877.
- Bailon, P., & Berthold, W. (1998). Polyethylene glycol-conjugated pharmaceutical proteins. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, 1(8), 352-356.
- Banerjee, S. S., Aher, N., Patil, R., & Khandare, J. (2012). Poly (ethylene glycol)-Prodrug Conjugates: Concept, Design, and Applications. *Journal of drug delivery*, 103973.
- Baumann, A., Piel, I., Hucke, F., Sandmann, S., Hetzel, T., & Schwarz, T. (2019). Pharmacokinetics, excretion, distribution, and metabolism of 60-kDa polyethylene glycol used in BAY 94-9027 in rats and its value for human prediction. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 130, 11-20.
- Blakney, A., Ip, S., & Geall, A. (2021). An update on self-amplifying mRNA vaccine development. *Vaccines*, 9(2), 97.
- Buschmann, M., Carrasco, M., Alishetty, S., Paige, M., Alameh, M., & Weissman, D. (2021). Nanomaterial Delivery Systems for mRNA vaccines. *Vaccines*, 9(1), 65.
- Cheng, J., & Pun, S. (2015). Polymeric biomaterials for cancer nanotechnology. *Biomaterials Science*, 3(7), 891-893.
- Cruje, C., & Chithrani, D. (2014). Polyethylene glycol functionalized nanoparticles for improved cancer treatment. *Reviews in Nanoscience and Nanotechnology*, 3(1), 20-30.
- Dai, L., & Gao, G. (2021). Viral targets for vaccines against COVID-19. *Nature reviews immunology*, 21, 73-82.

- Darwis, D., Erizal, A., Nurlidar, F., & Putra, D. (2015). Radiation processing of polymers for medical and pharmaceutical applications. *Macromolecular symposia*, 353(1), 15-23.
- D'Souza, A. A., & Shegokar, R. (2016). Polyethylene glycol (PEG): a versatile polymer for pharmaceutical applications. *Expert opinion on drug delivery*. 13(9), 1257-1275.
- Ekladios, I., Colson, Y. L., & Grinstaff, M. W. (2019). Polymer-drug conjugate therapeutics: advances, insights and prospects. *Nature reviews Drug Discovery*, 18(4), 273-294.
- Farjadian, F., Ghasemi, A., Gohari, O., Roointan, A., Karimi, M., & Hamblin, M. (2018). Nanopharmaceuticals and nanomedicines currently on the market: challenges and opportunities. *Nanomedicine*. 14(1), 93-126.
- Ferry, M., et. al. (2016). Ionizing radiation effects in polymers. *Reference module in Materials Science and Materials Engineering*. Elsevier.
- González, M., et. al. (2018). Synthesis of gamma radiation-induced PEGylated cisplatin for cancer treatment. *RSC Advances*, 8(60), 34718-34725.
- González, M., et. al. (2019). Synthesis, characterization, and in vitro evaluation of gamma radiation induced PEGylated isoniazid. *Electronic Journal of Biotechnology*, 41, 81-87.
- Güven, O. (2016). Ionizing radiation: a versatile tool for nanostructuring of polymers. *Pure and Applied Chemistry*, 88(10-11), 1049-1061.
- Harris, J. M., & Chess, R. B. (2003). Effect of pegylation on pharmaceuticals. *Nature reviews Drug Discovery*, 2(3), 214-221.
- Hoffman, A. S. (2016). The early days of PEG and PEGylation (1970s-1990s). *Acta Biomaterialia*. 40, 1-5.
- Howard, M., Jay, M., Dziubla, T., & Lu, X. (2008). PEGylation of nanocarrier drug delivery systems: state of the art. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 4(2), 133-148.
- Hussain, Z., Khan, S., Imran, M., Sohail, M., Shah, S., & de Matas, M. (2019). PEGylation: a promising strategy to overcome challenges to cancer-targeted nanomedicines: a review of challenges to clinical transition and promising resolution. *Drug Delivery and Translational Research*, 9, 721-734.

- Hutanu, D., Frishberg, M. D., Guo, L., & Darie, C. C. (2014). Recent applications of polyethylene glycols (PEGs) and PEG derivatives. *Modern Chemistry & Applications*, 2(2), 1-6.
- Ivens, I A., et. al. (2015). PEGylated biopharmaceuticals: current experience and considerations for nonclinical development. *Toxicologic pathology*. 13(7), 959-983.
- Kaczmarek, J., et. al. (2016). Polymer-lipid nanoparticles for systemic delivery of mRNA to the lungs. *Angewandte Chemie International Edition*, 55(44), 13808-13812.
- Kang, J. S., DeLuca, P. P., & Lee, K. C. (2009). Emerging PEGylated drugs. *Expert Opinion on Emerging Drugs*, 14(2), 363-380.
- Khurana, A., et. al. (2021). Role of nanotechnology behind the success of mRNA vaccines for COVID-19. *Nano today*, 38, 101142.
- Knop, K., Hoogenboom, R., Fischer, D., & Schubert, U. S. (2010). Poly (ethylene glycol) in drug delivery: pros and cons as well as potential alternatives. *Angewandte Chemie (International ed. In English)*, 49(36), 6288-6308.
- Liu, F., et. al. (2016). Pegylated drug delivery systems: from design to biomedical applications. *Nano Life*. 6(03n04), 1642002.
- Mishra, P., Nayak, B., & Dey, R. (2016). PEGylation in anti-cancer therapy: An overview. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11(3), 337-348.
- Park, E. J., Choi, J., Lee, K. C., & Na, D. H. (2019). Emerging PEGylated non-biologic drugs. *Expert opinion on emerging drugs*, 24(2), 107-117.
- Poovi, G., & Damodharan, N. (2018). Pegylation: Concept, Application, Characterization, PEG Reagents and its Various Shapes and Functionalization Agent. *European Journal of Applied Sciences*. 10(1), 01-14.
- Rahme, K., & Dagher, N. (2019). Chemistry routes for copolymer synthesis containing PEG for targeting, imaging, and drug delivery purposes. *Pharmaceutics*, 11(7), 327.
- Suk, J., Xu, Q., Kim, N., Hanes, J., & Ensign, L. (2016). PEGylation as a strategy for improving nanoparticle-based drug and gene delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 99, 28-51.

- Turecek, p., Bossard, M., Schoetens, F., & Ivens, I. (2016). PEGylation of Biopharmaceuticals: A Review of Chemistry and Nonclinical Safety Information of Approved Drugs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 105(2), 460-475.
- Veronese, F. M., & Pasut, G. (2005). PEGylation, succesful approach to drug delivery. *Drug Discovery today*, 10(21), 1451-1458.
- Vllasaliu, D., Fowler, R., & Stolnik, S. (2013). PEGylated nanomedicines: recent progress and remaining concerns. *Expert opinion on Drug Delivery*, 11(1), 139-154.
- Yadav, D., & Dewangan, H. K. (2020). PEGylation: an important approach for novel drug delivery system. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 1-15.
- Xu, S., Yang, K., Li, R., & Zhang, L. (2020). mRNA Vaccine Era-Mechanisms, Drug platform and Clinical propection. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(18), 6582.
- Zhang, P., Sun, F., Liu, S., & Jiang, S. (2016). Anti-PEG antibodies in the clinic: Current issues and beyond PEGylation. *Journal of controlled release*, 244, 184-193.
- Zhang, Z., et. al. (2020). Recent advances in bioanalytical methods of polyethylene glycols and PEGylated pharmaceuticals. *Journal of Separation Science*. 43, 1978-1997.