CONJUGADOS POLIMÉRICOS Y SU UTILIZACIÓN COMO NANOMEDICINAS ANTICANCERÍGENAS

S. Madrigal-Carballo[2,3*], G. Porras[2], M. Esquivel[2], M. Sibaja[2], J. Vega-Baudrit[2], S. Tamborero[1], M.J. Vicent[1]

1) Laboratorio de Polímeros Terapéuticos, Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF), Valencia, España.
2) Laboratorio de Polímeros (POLIUNA), Escuela de Química, Universidad Nacional, Costa Rica.
3) Unidad de Investigación de Coloides, Departamento de Química Física, Universidad de Valencia, España.
Correo electrónico: smadriga@una.ac.cr

Recibido Noviembre de 2007; Aceptado Agosto 2008

RESUMEN

Independientemente del descubrimiento de nuevos fármacos para dianas farmacológicas bien establecidas, el compromiso de la ciencia con la sociedad demanda del desarrollo de análogos macromoleculares que mejoren las posibilidades terapéuticas de los fármacos existentes aportando una mayor actividad biológica y una mayor especificidad. Se postula, cada vez con más fuerza, que la aplicación de la nanotecnología a la medicina es la clave para conseguir las mejoras necesarias tanto en diagnosis como en terapia anticancerígeno [1]. Para poder distinguirlos de otros productos biotecnológicos como proteínas y anticuerpos, los nanofármacos han sido definidos como "... sistemas complejos de escala nanométrica constituidos al menos por dos componentes, siendo uno de ellos el agente bioactivo..." [2]. Con varios conjugados polímero-proteína en el mercado y más de 11 conjugados polímero-fármaco en fase clínica, los polímeros terapéuticos pueden ser considerados como una de las primeras nanomedicinas poliméricas [3]. Es importante mencionar que aunque este artículo se centra en el uso de conjugados poliméricos como anticancerígenos, su aplicación clínica es mucho más amplia habiendo sido descritos como posibles inmunomoduladores, agentes antivíricos o fármacos para reconstitución enzimática entre otros [3].

Palabras clave: *Conjugados poliméricos, nanomedicinas, anticancerígenos.*

ABSTRACT

Independently of the discovery of new drugs for good established pharmacologic targets, the commitment of science with the society demands the development of macromolecular analogs, in order to improve the therapeutic possibilities of existing drugs, contributing to an increase on their biological activity and a greater specificity. Every time becomes more strongly the postulated that the application of nanotechnology in medicine is the key to obtain the necessary improvements in diagnosis and anticancer therapy [1]. In order to distinguish them from the other biotechnological products, such as proteins and antibodies; the nanodrugs have been defined as "… complex systems of nanometric scale, at least constituted by two components, being one of them a bioactive agent…" [2]. With several polymer-protein conjugates in the market and more than eleven polymer-drug conjugates in clinical trails; polymer therapeutics can be considered as the first polymeric nanomedicines [3]. It is important to make clear that although this article is focused on the use of polymeric conjugates as anticancerigenic agents, its clinical application is wider than. Other potential applications have been described for these nanomedicines, such as inmunomodulation, antiviral agents or drugs for enzymatic reconstruction, among others [3].

Key words: *Polymeric conjugates, nanomedicines, anticancerigenic.*

1. INTRODUCCIÓN

Estadísticas proporcionadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) nos revelan que cada cuatro segundos muere una persona de cáncer, cada once segundos una de SIDA y cada 86 segundos una de *Alzheimer*. Es por tanto obvia para éstas y otras enfermedades degenerativas, crónicas o quimioresistentes la urgente necesidad de mejores tratamientos. Actualmente, el desarrollo de nuevas terapias se aborda desde dos aproximaciones diferentes. Por un lado, la investigación en genómica y proteómica está posibilitando la identificación de nuevas dianas moleculares específicas de tumor [4]. En teoría, una estructura química distintiva que ajuste de forma perfecta con una única diana farmacológica debería aportar eficacia terapéutica sin toxicidad. Sin embargo, en la práctica está siendo realmente difícil encontrar o sintetizar tal fármaco "perfecto", en particular fármacos con aplicación en tratamientos de tumores sólidos comunes tales como el cáncer de mama, próstata, pulmón o gastrointestinal. Aún sin un marcado éxito, cabe mencionar que la investigación en esta línea se está llevando a cabo principalmente mediante el cribado ("*screening*") de productos naturales, síntesis de compuestos de bajo peso molecular (M_w) vía química médica tradicional o utilizando química combinatoria [5] y con la identificación de macromoléculas naturales, incluyendo anticuerpos [6], proteínas [7] y oligonucleótidos [8-10] con inherente actividad biológica. El limitado progreso conseguido siguiendo esta estrategia se atribuye principalmente al uso de modelos preclínicos poco predictivos [11], a la falta de especificidad del fármaco en clínica, y por supuesto al problema de resistencia adquirida.

La segunda aproximación, en muchos sentidos complementaria a la anterior, es el diseño de sistemas innovadores de transporte [12,13] desarrollados para guiar el agente bioactivo de forma más precisa a la célula tumoral. La conversión de nuevos agentes terapéuticos en fármacos se retrasa frecuentemente por la falta de tecnologías o sistemas adecuados para el transporte específico [14], necesarios para dirigir la terapia propuesta al compartimiento intracelular correcto de la célula dañada ("*drug targeting*") y, además, una vez allí, ser capaz de liberar el agente bioactivo a una concentración efectiva durante un período de tiempo apropiado ("*controlled release*"). Como ya se ha mencionado anteriormente, un transporte inadecuado es uno de los factores más importantes que limita la posibilidad de utilizar medicinas moleculares a su completo potencial terapéutico. Por ejemplo, desde 1989 hasta enero de 2004 se han llevado a cabo más de 900 ensayos clínicos basados en terapia génica con cáncer como diana [15], sin embargo todavía no existe ningún fármaco derivado de ellos que haya sido aprobado para uso clínico rutinario.

2. NANOMEDICINAS COMO TERAPIA

Nanociencia y Nanotecnología son la base de técnicas innovadoras para el transporte de fármacos con beneficios potenciales para el paciente y nuevos mercados para la industria; el desarrollo de sistemas de transporte y liberación controlada de moléculas con actividad terapéutica es en la actualidad tema de debate estratégico en las grandes firmas farmacéuticas. En la última década, se ha observado un crecimiento exponencial tanto en el desarrollo como en la aprobación por autoridades reguladoras de nanosistemas terapéuticos híbridos y de transporte de fármacos con aplicación en clínica [3, 16-20]. La mayoría son terapias anticancerígenas, en ellos se encuentran por ejemplo: liposomas (como *DaunoXome*® o *Doxil*®/*Caelyx*®) [17-21], anticuerpos monoclonales (*Herceptin*®, *Avastin*™) e inmunoconjugados (*Mylotarg*®, *Tositumomab*®, *Zevalin*®) [6, 22-24], nanoparticulas (Abraxane™, conteniendo paclitaxel) [19,25] o polímeros terapéuticos como fármacos poliméricos (*Copaxone*®) [3] o conjugados polímero-proteína (*Oncaspar*®, *Neulasta*®) [3]. Estas nanoconstrucciones a menudo multicomponentes pueden ser definidas como las primeras nanomedicinas con demostrado beneficio clínico.

En realidad este concepto no es completemente nuevo, los inmunoconjugados, liposomas, nanopartículas o los conjugados poliméricos ya se conocían en los años 70. Sin embargo, estaban considerados como tecnologías individuales y competitivas, sólo una de ellas podía llegar a ser la panacea en aplicaciones de transporte específico. Pero todas y cada una de ellas ofrece ventajas y desventajas [21]. Los anticuerpos poseen un gran potencial para la especificidad selectiva, sin embargo son inmunogénicos. Los liposomas tienen alta capacidad de carga, pero pueden tanto liberar el fármaco demasiado rápido o retenerlo fuertemente, además los liposomas son capturados fácilmente por el retículo endoplasmático al igual que ocurre con las nanopartículas después de una administración intravenosa (i.v.). Por lo tanto, un sistema de transporte ideal surge a menudo de la fusión de dos o más tecnologías.

3. POLÍMEROS TERAPÉUTICOS COMO TERAPIA ANTICANCERÍGENA

Aunque el papel de los polímeros como biomateriales (excipientes en formulaciones farmacéuticas, prótesis, lentes de contacto, etc.) está muy bien establecido, hemos tenido que esperar hasta esta última década para conseguir la aceptación clínica de terapias poliméricas de administración parenteral.

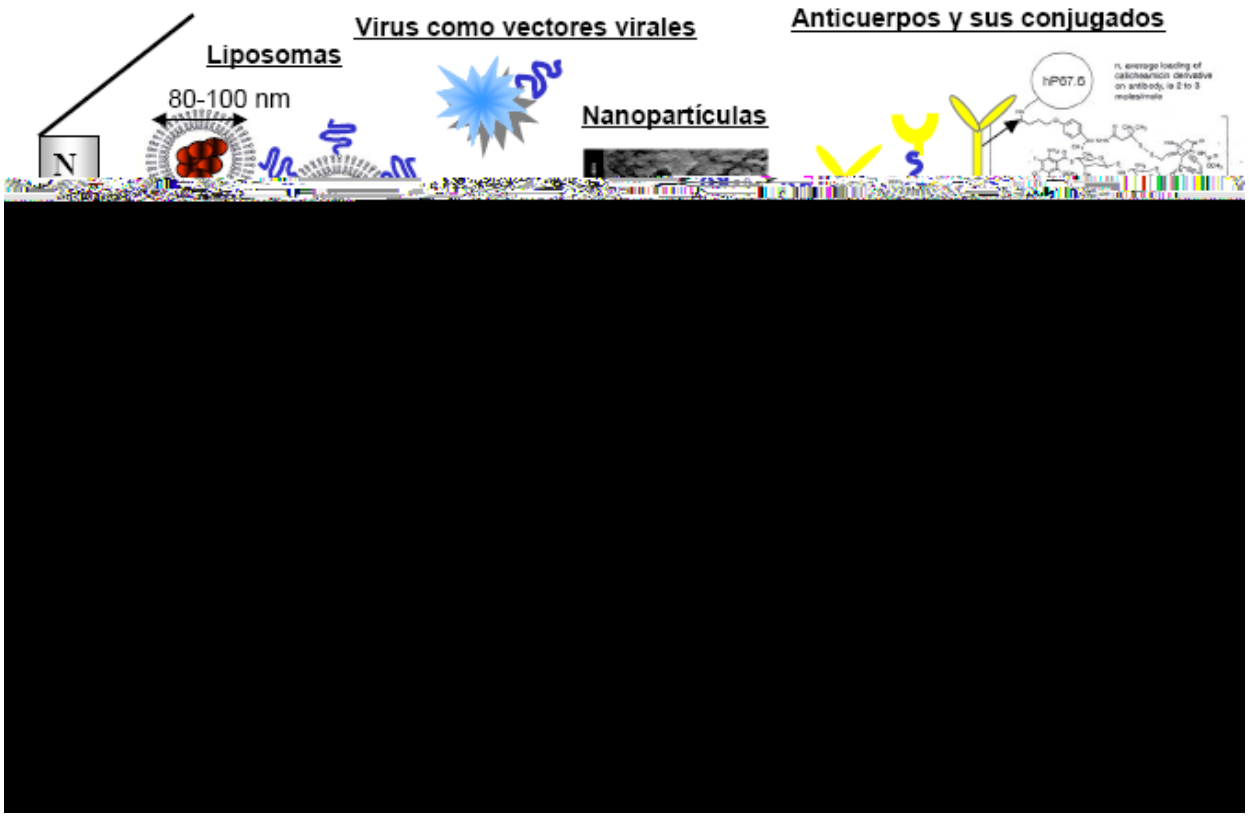

Figura 1. Representación de los tipos de nanomedicinas desarrollados, entre ellas los polímeros terapéuticos.

Desde un punto de vista industrial, los polímeros terapéuticos son considerados como nuevas entidades químicas y no como simples sistemas convencionales de transporte de fármacos. Los sistemas de transporte tradicionales simplemente atrapan, solubilizan o liberan de forma controlada el agente bioactivo sin utilizar una conjugación química. Ejemplos de este tipo de "*reservoirs*" poliméricos son *Zoladex*® para cáncer de próstata [26], o *Gliadel*® con aplicación en tumores cerebrales [27]. El término "polímeros terapéuticos" [3] engloba cinco grupos de nanoconstrucciones híbridas que utilizan polímeros hidrosolubles, tanto de forma bioactiva como formando parte funcional inerte de un complejo multicomponente, en este caso se une de forma covalente un agente terapéutico al polímero. Estas nanoconstrucciones incluyen: fármacos poliméricos con actividad inherente [28,29], micelas poliméricas [30], poliplejos con aplicación como vectores no virales en transporte génico [31, 32], conjugados polímero-fármaco [33, 34] y conjugados polímero-proteína [17, 34]. Al ser todos ellos macromoléculas, deben ser administrados a pacientes de forma parenteral [subcutánea (s.c.), intramuscular (i.m.) o intravenosa (i.v.)] de ahí su óptima aplicación en tumores metastáticos.

Hasta la fecha, únicamente polímeros lineales, tanto naturales [ácido poliglutámico (PGA) o polisacáridos como el dextrano] como sintéticos [principalmente poli(etilenglicol) (PEG) y N-(2-hidroxipropilmetacrilamida) (HPMA)], han logrado llegar a fase clínica [34], sin embargo los grandes avances experimentados y la versatilidad ofrecida por la química de polímeros están permitiendo el desarrollo de estructuras poliméricas con arquitecturas biomiméticas mucho más controladas, incluyendo entre éstas los dendrímeros y polímeros dendronizados [3, 35, 36].

4. CONJUGADOS POLIMÉRICOS

Dentro de los conjugados poliméricos se distinguen dos grupos: conjugados polímero-proteína y conjugados polímero-fármaco [37]. Aunque los conjugados polímero-proteína y polímero-fármaco posean una gran similitud, el objetivo o razón biológica perseguida en cada caso es diferente y por tanto también lo son los parámetros a tener en cuenta para su construcción. Mientras que en el conjugado polímero-proteína se busca el favorecer una mayor estabilidad en suero y una disminución en inmunogenicidad, en el conjugado polímero-fármaco se quiere incidir en la farmacocinética del mecanismo de internalización celular, mejorando la especificidad celular del fármaco de bajo peso molecular (M_w), su mecanismo de internalización y liberación óptima al alcanzar la diana molecular propuesta.

4.1 Importancia de la unión polímero

4.2.1 SMANCS: un conjugado proteico de administración local. SMANCS, comercializado con el nombre de *Zinostatin Stimalamer*®, es el primer conjugado polímero-proteína que llegó al mercado. Fue diseñado por *Maeda* y colaboradores con la intención de conseguir un conjugado de la proteína antitumoral neocarzinostatin (NCS) adecuado para administración local en pacientes con carcinoma hepatocelular, utilizando la arteria femoral para acceder al tumor vía arteria hepática [40, 41]. La conjugación aumenta considerablemente la hidrofóbia del NCS y por tanto su solubilidad lipídica, lo que permitió llevar a cabo la administración de SMANCS en el agente de contraste *Lipiodol* aumentando así el tiempo de vida media en plasma, permitiendo la visualización del tumor y mejorando el grado de especificidad tumoral. Estudios preclínicos con SMANCS mostraron una increíble proporción tumor/sangre > 2500 [41]. Además, un gran número de pacientes con hepatocarcinomas tratados con SMANCS consiguieron una clara reducción del tamaño del tumor (95% de los casos) y una disminución en los niveles de fetoproteína (86%) [40].

4.2.2 PEGuilación: mejorando el potencial terapéutico de proteínas. La PEGuilación o conjugación de proteínas a polietilenglicol (PEG), tal como la describieron *Davis* y *Abuchowski* en los años 70 [42], es en la actualidad la estrategia que mejores resultados ofrece con terapia proteica en clínica. Esta técnica se utiliza para aumentar la solubilidad y estabilidad de la proteína, reducir su inmunogenicidad y prolongar su tiempo de vida medio en plasma. Consecuentemente, la frecuencia de dosis con estos agentes terapéuticos macromoleculares es mucho menor que la requerida con proteína libre, mejorando de este modo la calidad de vida del paciente [8, 17, 43]. Desde que la primer enzima PEGuiladora, PEG adenosina deaminasa (ADAGEN™), salió al mercado en 1990 un gran número de conjugados PEG-proteína han pasado a ser considerados como terapia de uso clínico rutinario (véase la Tabla 1).

El PEG-L-asparaginasa (*Oncaspar*®) fue el primer conjugado anticancerígeno PEG-proteína en conseguir la aprobación de la FDA en 1994. Este conjugado se utiliza en el tratamiento de leucemia linfoblástica aguda (ALL) [44, 45]. La enzima nativa induce reacciones de hipersensibilidad [46] y tiene un tiempo de vida media en plasma ($t_{1/2}$) relativamente corto (8-30 horas), debido a esto es necesario administrar una dosis diariamente durante cuatro semanas. Sin embargo, el conjugado polimérico tiene un $t_{1/2}$ de ~14 días, con lo que disminuye considerablemente la frecuencia de dosis a tomar por el paciente (1 hora de infusión cada dos semanas). Además, y de forma consistente, la PEGuilación de este enzima

disminuye las reacciones de hipersensibilidad (únicamente observadas en < 8% de pacientes después de administrar el conjugado) [47, 48].

Tabla 1. Conjugados anticancerígenos polímero – proteína, polímero – fármaco en farmacia clínica.

Compuesto	Nombre	Estado	Observaciones
Conjugados Polímero-Proteína			
SMANCS	Zinostatin Stimalamer®	Mercado	Carcinoma hepatocelular
PEG-L-asparaginasa	Oncaspar®	Mercado	Leucemia linfoblástica aguda
PEG-GCSF	Neulasta™	Mercado	Prevención de neutropenia asociada a quimioterapia
PEG-interferón α 2a	PEG-Asys®	Mercado Fase I/II	Hepatitis B & C melanoma, leucemia mielógena crónica y carcinoma renal
PEG-interferón α 2b	PEG-Intron™	Mercado Fase I/II	Hepatitis C Melanoma, mieloma múltiple y carcinoma renal
PEG-arginina deiminasa	ADI-PEG20	Fase I	Carcinoma hepatocelular
PEG-glutaminasa combinada con un antimetabolito glutamino 6-diazo-5-oxo-L-norleucina (DON)	PEG-PGA y DON	Fase I/II	Varios
PEG-D-aminoácido oxidasa (DAO) combinado con el substrato DAO, D-prolina	PEG-DAO y DAO, D-prolina	Preclínica	
Conjugados Polímero-Fármaco			
Poliglutamato-paclitaxel	CT-2103; XYOTAX™	Fase III	Varios, particularmente NSCLC; cáncer de ovario
Polyglutamato-camptotecina	CT-2106	Fase I	Varios
HPMA copolímero-doxorubicina	PK1; FCE28068	Fase II	Varios, particularmente cáncer de pulmón y mama
HPMA copolímero-doxorubicina-galactosamina	PK2; FCE28069	Fase I/II	Particularmente carcinoma hepatocelular
HPMA copolímero paclitaxel	PNU166945	Fase I[a]	Varios
HPMA copolímero-camptotecina	MAG-CPT	Fase I[a]	Varios
HPMA copolímero-carboplatino platinato	AP5280	Fase I/II	Varios
HPMA copolímero-DACH-platinato	AP5346	Fase I/II	Varios
Dextrano-doxorubicina	AD-70, DOX-OXD	Fase I[a]	Varios
Dextrano modificado-camptotecina	DE-310	Fase I[a]	Varios
PEG-camptotecina	PROTHECAN™	Fase II	Varios

[a] Los estudios en fase clínica de estos conjugados han sido abandonados debido principalmente a un alto grado de toxicidad no específica durante el tratamiento.
SMANCS: poli(estireno-co-anhídrido maleico)-neocarzinostatina; G-CSF: factor estimulador de colonias de granulocitos; HPMA: N-(2-hidroxipropil)metacrilamida; PEG: poli(etilenglicol); NSCLC: cáncer de pulmón de célula no pequeña; DACH: diaminociclohexano.

Actualmente, otras enzimas PEGuiladas anticancerígenas están siendo estudiadas clínicamente, como es el caso del conjugado PEG- arginina deiminasa recombinante (rhArg). El conjugado PEG-rhArg se está evaluando como tratamiento potencial para carcinoma hepatocelular tanto como un agente único, eliminando arginina, como en combinación con 5-fluorouracilo (5-FU) [49, 50]. También se encuentra en fase clínica un tratamiento basado en la combinación de glutaminasa PEGuilada (PEG-glut) y el antimetabolito de la glutamina 6-diazo-5-oxo-L-norleucina (DON). Esta combinación está fundamentada en la hipótesis de que DON es un agente antitumoral más efectivo cuando los niveles de glutamina son bajos [51].

4.2.3 Citoquinas PEGuiladas. Varias citoquinas o agentes modificadores de la respuesta biológica (tales como el factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF) [52, 53], el interferón alfa (IFNα) [54,55] o la interloquina 2 (IL2) [56-58]) también se han conjugado de forma satisfactoria a PEG. El PEG-G-CSF (*Neulasta*^{TM}) ya se encuentra en el mercado y es utilizado para prevenir neutropenia severa inducida por quimioterapia. La administración s.c. de una dosis de PEG-G-CSF (100 $\mu g\ kg^{-1}$) el segundo día de cada ciclo de quimioterapia, da un soporte de neutrófilos equivalente al obtenido con una dosis de G-CSF (5 $\mu g\ kg^{-1}$ $día^{-1}$) diaria durante todos los días del ciclo quimioterapéutico [59].

Los conjugados PEG-interferón α-*PEGASYS*® [54] y *PEG-Intron*^{TM} [55] han demostrado clínicamente una actividad antivírica superior a IFNα libre y están aprobados para el tratamiento de hepatitis C [60]. Además, actualmente están siendo evaluados como agentes anticancerígenos. La eficacia de IFNα en el tratamiento tanto de melanoma como de carcinoma renal está bien establecida, sin embargo la administración de la proteína presenta problemas tales como toxicidad y un corto $t_{1/2}$ (2,3 horas), lo que hace necesaria una frecuencia de administración de 3 veces por semana. En un estudio en fase clínica I/II, IFNα-2b PEGuilado fue dado una vez por semana de forma s.c. durante 12 semanas a pacientes con tumores sólidos en estado avanzado [carcinoma renal primario (RCC)]. El conjugado fue activo y bien tolerado [dosis máxima tolerada (MTD) de 6 $\mu g\ kg^{-1}$ $semana^{-1}$] [55]. Los interferones PEGuilados en combinación con agentes antiangiogénicos o inmunomoduladores también están siendo evaluados en clínica como terapia potencial en otras enfermedades (por ejemplo: glioma o melanoma metastático), sin embargo los resultados no son muy esperanzadores [61, 62].

4.3 Conjugados polímero-fármaco. El concepto de conjugado polímero-fármaco surgió paralelamente al nacimiento de los conjugados polímero-proteína y fue el resultado de la combinación del trabajo visionario de dos investigadores a mediados de los años 70. De *Duve* con el transporte "lisosomotrópico de fármacos" [63] y *Ringsdorf* con una química de polímeros idealizada para la conjugación de fármacos [64]. Aunque todavía no existe ningún conjugado polímero-fármaco de uso clínico rutinario, los importantes resultados clínicos obtenidos en la actualidad sugieren que la esperada aprobación por la FDA ocurra en un período no mayor a dos años. Es importante mencionar que casi la totalidad de los conjugados polímero-fármaco en fase clínica (once en este momento) basan su especificidad en el aumento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos en el tejido tumoral, el llamado efecto "EPR" ("*Enhanced Permeability and Retention Effect*") descrito por *Maeda* [64]. Este fenómeno es consecuencia de la combinación de dos factores, la hiperpermeabilidad de los vasos angiogénicos tumorales (permitiendo extravasación del polímero), y de la falta de drenaje linfático en el tejido tumoral que provoca, subsecuentemente, la retención de la macromolécula. La especificidad ("*targeting*") tumoral debido al efecto EPR depende de la concentración en plasma del polímero circulante [65], de este modo, portadores poliméricos no-biodegradables tales como el copolímero HPMA [66] o polietilenglicol (PEG) [42] (con M_w < 40.000 g/mol para asegurar una eliminación renal efectiva), tienen un perfil farmacocinético desfavorecido en términos de una óptima especificidad tumoral.

Por otro lado, la introducción de un residuo dirigente (anticuerpo [67, 68], péptido o proteína [69, 70], sacárido [71], etc.) en la estructura del conjugado polimérico nos ofrece la posibilidad de conseguir además de la inherente especificidad pasiva ya descrita, una especificidad tumoral activa adicional [21]. Sin embargo, aunque se han llevado a cabo numerosos estudios preclínicos siguiendo este concepto de especificidad activa, solamente uno de los conjugados evaluados ha sido capaz de ser transferido a clínica: el conjugado polimérico HPMA-doxorubicina-galactosamina (PK2, FCE28069) dirigido al receptor de asialoglicoproteínas en hepatocitos y por tanto con aplicación en hepatocarcinoma celular [71].

Como ya se ha mencionado anteriormente, tanto la elección del portador polimérico [72] como la del enlace polímero-fármaco son puntos clave en el diseño de este tipo de macromoléculas. Por un lado, el polímero no debe ser ni tóxico ni inmunogénico y además poseer una apropiada capacidad de carga, por el otro, el enlace debe ser estable en plasma y capaz de biodegradarse a la velocidad adecuada cuando el conjugado llegue a la diana

molecular establecida. Una toxicidad elevada derivada de una inapropiada velocidad de degradación del enlace y como consecuencia una ausencia de beneficio clínico, ha provocado la retirada de los estudios en fase clínica de dos conjugados: HPMA-paclitaxel [73] y HPMA-camptotecina [74].

Al principio se pensaba que los polímeros naturales debían ser los más seguros, sin embargo, después del amplio estudio llevado a cabo con varios conjugados del polisacárido dextrano confirmaron que esto no era cierto. La evaluación en fase clínica I de los conjugado dextrano-doxorubicina (AD-70) [75] y dextrano carboximetilado-camptotecina (DE-310) [76] mostró una inesperada toxicidad debido al alto grado de inmunogenicidad provocando la modificación la cadena polimérica principal del dextrano. Además, los conjugados de dextrano presentan una falta de especificidad tumoral debido a su internalización preferente en el retículo endoplasmático. La mayoría de conjugados en fase clínica poseen como portador polimérico el copolímero HPMA o PGA; PEG también ha sido estudiado como plataforma (PEG-CPT; PROTHECAN®) [77] pero la baja capacidad de carga lo hace poco apropiado para el diseño de este tipo de macromoléculas [78].

El HPMA copolímero-doxorubicina (PK1, FCE28068), desarrollado por *Kopecek* y *Duncan*, fue el primer conjugado anticancerígeno a ser evaluado clínicamente en 1994 [79]. En primer lugar, quedó demostrado que HPMA es un portador polimérico biocompatible, no tóxico y no inmunogénico incluso a dosis elevadas (20 g/m^2), hecho que lo establece como una plataforma adecuada para el diseño de este tipo de sistemas. Por otro lado, estudios en fase I demostraron que la toxicidad presentada por PK1 (8 % m/m de doxorubicina) es hasta cinco menor que la producida por doxorubicina libre (MTD 320 mg/m^2 vs. 60 mg/m^2). Además, un dato adicional muy importante a su favor, es la actividad antitumoral que presenta PK1 en tumores quimio-resistentes (debido a su diferente mecanismo de internalización). Estudios en fase II demuestran de nuevo actividad en pacientes con cáncer de mama y de pulmón de célula no pequeña (NSCLC).

Después de la evaluación clínica de PK1 y PK2 (con introducción adicional de galactosamina como residuo dirigente), cuatro conjugados más con HPMA como plataforma han sido estudiados (Tabla 1). Los más recientes son dos platinatos, AP5280 [80, 81] y AP5346 [80, 82]. Estos conjugados han mostrado resultados muy prometedores en varios tipos de tumores (con MTD de 4.500 mg Pt m^{-2} para AP5280 y 1.280 mg Pt m^{-2} para AP5346) por lo que están iniciando en estos momentos la fase II. Cabe mencionar, el conjugado HPMA-doxorubicina-inmunoglobulina (HuIg) sintetizado de forma personalizada dependiendo de las necesidades de cada paciente, siendo evaluado clínicamente en seis casos

[83]. Aunque es difícil analizar los datos obtenidos de forma objetiva, siguiendo las directrices marcadas por una buena práctica en clínica (GCP), es necesario resaltar que se observaron efectos antitumorales en algunos casos. Los datos obtenidos en este estudio sugieren que los conjugados HPMA copolímero-doxorubicina pueden ser inmunoestimulativos, ya que, el conjugado no parece inducir anticuerpos anti-Ig, y da lugar a un aumento en los niveles de células $CD16^{+}56$ y $CD4^{+}$ en sangre junto con una activación de células NK y LAK.

Es importante mencionar, como remarca final que la obtención de la aprobación de la FDA para llevar a cabo un seguimiento acelerado ("*fast-track FDA aproval*") con *XYOTAX*™ en junio de 2004, demuestra el potencial de estos conjugados como anticancerígenos. *XYOTAX*™ es un conjugado ácido poli-L-glutámico-paclitaxel (*PGA-paclitaxel*, CT-2103) desarrollado por *Cell Therapeutics Inc*. Este hecho fue posible debido a los sorprendentes resultados obtenidos en fase III con pacientes de NSCLC en fase PS-2, donde ninguno de los tratamiento existentes en clínica había sido efectivo [84]. En la actualidad, es el conjugado más avanzado en clínica dando muy buenos resultados en algunos tipos de tumor determinados. Al contrario que el conjugado *HPMA-paclitaxel*, *XYOTAX*™ contiene una carga de fármaco mucho más elevada (37% m/m vs. 5% m/m). Además, PGA es un polímero biodegradable en presencia de enzimas lisosomales (catepsina B), factor muy importante ya que este tipo de conjugados siguen un mecanismo de transporte intracelular lisosomotrópico (véase la Figura 2). *XYOTAX*™ tanto como tratamiento único o combinado con otros fármacos o radioterapia puede prolongar la vida de pacientes con NSCLC en fase PS-2 y también de pacientes en estado avanzado (III/IV) de cáncer de ovario cuando se administra como tratamiento de primera línea en combinación con carboplatino (98% de respuestas positivas) [87-89]. Curiosamente, se han detectado diferencias en la respuesta al tratamiento dependiendo del género del paciente, con un mayor éxito de *XYOTAX*™ en mujeres pre-menopáusicas [90]. La hipótesis que se maneja en la actualidad es la existencia de una correlación entre los niveles de estrógenos y la actividad del conjugado, ya que se ha visto que los estrógenos son capaces de aumentar la expresión de catepsina B [91].

5. FUTURAS OPORTUNIDADES, RETOS Y CONCLUSIONES.

Con los primeros conjugados polímero-proteína antitumorales en el mercado, y el número creciente de conjugados polímero-fármaco en fase clínica con una clara posibilidad de alcanzar el mercado en los próximos años, los conjugados poliméricos anticancerígenos se establecen como terapia anticancerígena efectiva. Sin embargo, todavía existen muchos retos

a solucionar y oportunidades que nos permitan desarrollar todavía más esta tecnología.

En primer lugar se requiere del desarrollo de mejores portadores poliméricos, biodegradables con alto peso molecular para así poder explotar en mayor medida el efecto EPR e idealmente, que además posean una arquitectura definida. Muchos grupos han dirigido su investigación hacia el desarrollo de este tipo de sistemas. Los dendrímeros o polímeros dendronizados con una arquitectura 3D definida y una alta densidad de grupos funcionales en la superficie se presentan como opciones muy atractivas para la inmovilización tanto de fármacos anticancerígenos, residuos directores o agentes de contraste o imagen [36]. Otras arquitecturas interesantes bajo evaluación son: polímeros hiperramificados [92], polímeros estrella [93] y derivados híbridos de peptidos o glicosacáridos [94].

La conjugación de fármacos dirigidos a nuevas dianas moleculares también está siendo un campo de exploración con aplicaciones muy interesantes. Ejemplos de esta aproximación son: HPMA-TNP470, el primer conjugado polimérico antiangiogénico [95] y CPT-PEG-LHRH [96], dirigido a modular apoptosis celular.

La utilización de terapia de combinación en tratamiento antitumoral, está demostrando ser una estrategia con un gran potencial para el desarrollo de conjugados de segunda generación con características mejoradas. Esto queda patente ya en la actualidad con casos clínicos como explicados para *XYOTAX*^{TM}, donde la combinación tanto con radioterapia como con otros fármacos a dado resultados increíbles en pacientes. Recientemente, nosotros hemos desarrollado un conjugado HPMA-doxorubicina-aminoglutetimida con el objetivo de obtener una terapía de combinación polimérica para cáncer de mama [97]. Este conjugado de combinación mostró en un modelo *in vitro* con células MCF-7 y MCF-7ca una actividad citotóxica mucho mayor a la obtenida con los conjugados monofármaco o con una mezcla simple de ambos. Estudios mecanísticos sugieren que la liberación simultánea de ambos fármacos podría potenciar el efecto pro-apoptótico del conjugado [98]. Estos resultados potencian la utilidad de esta estrategia de combinación para mejorar en un futuro los tratamientos disponibles actualmente para el tratamiento de tumores sólidos.

Con unas bases bien establecidas y claras posibilidades para futuras mejoras, los conjugados poliméricos pueden ser reconocidos como una nanoterapia anticancerígena efectiva.

Agradecimientos. Los investigadores agradecen el valioso aporte de la *Dra. Ruth Duncan*, directora del *Centre for Polymer Therapeutics, Welsh School of Pharmacy, Cardiff University, UK*.

BIBLIOGRAFÍA

[1]. Ferrari M, *Nature Rev. Cancer*, **5**, 161-171 (2005)

[3]. Duncan R, *Nature Rev. Drug Discov*., **2**, 347 (2003)

[4]. Atkins JH, Gershell LJ, *Nature Rev. Cancer*, **1**, 645 (2002)

[5]. Triggle DJ, *Med. Chem. Res.*, **13**, 238 (2004)

[6]. Brekke OH, Sandlie I. 2003. Nature Rev. Drug Discov. Vol 2: 52-62.

[7]. Nagle T., Berg C., Nassr R., Pang K. 2003. Nature Rev. Drug Discov. Vol 2: 75-79.

[8]. Bitko V, Musiyenko A, Shulyayeva O, Barik S. 2005. Nature. Med. Vol 11: 50-55 9.

[9]. Burton EA, Fink D J, Glorioso J C. 2005. Current Opin. in Mol. Therapeutics. Vol 7: 326-336.

[10]. Novina C D, Sharp PA. 2004. Nature Vol 430: 161-164.

[11]. Kamb A. 2005. Nature Rev. Drug Discov. Vol 4: 161-165.

[12]. Huang P S & Oliff A. 2001., Current Opin. Genetics Develop. Vol 11: 104–110.

[13]. Moses M A, Brem H & Langer R. 2003. Cancer Cell Vol 4: 337-341.

[14]. Jain RK. 1998. Nature Med. Vol 4: 655-657.

[15]. Edelstein M L, Abedi M R, Wixon J, Edelstein R M. 2004. J Gene Med Vol 6: 597-602.

[16]. Allen TM. 2002. Nature Rev. Drug Discov. Vol 2: 750-763.

[17]. Harris J M & Chess R B. 2003. Nature Rev. Drug Discov. Vol 2: 214-221.

[18]. Torchilin VP. 2005. Nature Rev. Drug Discov. Vol 4: 145-160.

[19]. Brigger I, Dubernet C, & Couvreur P. 2002. Adv. Drug Del. Rev. Vol 54: 631-651.

[20]. Moghimi S M, Hunter A C, Murray J C. 2005. FASEB J. Vol 19: 311-330.

[21]. Duncan R. 2005. Targeting and intracellular delivery of drugs. En: Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine, Ed. RA Meyers Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag, GmbH & Co. KgaA. pp 163-204.

[22]. Harries M & Smith I. 2002. Endocrine-Related Cancer Vol 9: 75–85.

[23]. Ferrara N, Hillan KJ, Gerber H-P & Novotny W. 2004. Nature Rev. Drug Discov. Vol 3: 391-400.

[24]. Milenic DE, Brady ED, & Brechbiel MW. 2004. Nature Rev. Drug Disc. Vol 3: 488-498.

[25]. O'Shaughnessy JA *et al*. "Weekly nanoparticle albumin paclitaxel (Abraxane) results in long-term disease control in patients with taxane-refractory metatastic breast cancer", Proc. San Antonio Breast Cancer Symposium 1070 (2004)

[26]. Tsukagoshi S, *Gan To Kagaku Ryoho*, **29**, 1675 (2002)

[27]. Westphal M, *et al*. 2003. Neuro-oncol. Vol 5: 79-88.

[28]. Donaruma L G. 1974. Progr. Polym. Sci. Vol 4: 1-25.

[29]. Seymour L W. 1991. J Bioact. Comp. Polymers. Vol 6: 178-216

[30]. Yokoyama M. *et al*. 1990. J. Cont Rel. Vol 11: 269-278

[31]. Pack D W, Hoffman A S, Pun S & Stayton P S. 2005. Nat Rev Drug Discov. Vol 4: 581-593

[32]. Wagner E & Kloeckner J. 2005. Adv. Polymer Sci. Vol 192: 1425-1432.

[33]. Duncan R. 1992. Anti-Cancer Drugs. Vol 3: 175-210.

[34]. Duncan R. 2003. Polymer-anticancer drug conjugates. En: Handbook of Anticancer Drug Development (eds.Budman, D., Calvert, H. & Rowinsky, E.) (Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, pp 239-260.

[35]. Duncan R. & Izzo L. 2005. Dendrimer biocompatibility and toxicity. En: Advanced Drug Delivery Reviews Special Issue on Dendrimers Vol 57, Ed A T Florence pp 2215-2237

[36]. Lee C C, Mackey JA, Fréchet J M J & Szoka F C. 2005. Nat. Biotechnol. Vol 23: 1517-1526.

[37]. Vicent M J & Duncan R. 2005. Trends Biotechnol. Vol 24: 39-47

[38]. Ferruti P, Marchisio M A, Duncan R. 2002. Macromol. Rapid Comm. Vol 23: 332-355.

[39]. Ulbrich K, Subr V. 2004. Adv. Drug Deliv. Rev. Vol 23: 1023-1050.

[40]. Maeda H & Konno T. 1997. Metamorphosis of neocarzinostatin to SMANCS: Chemistry, biology, pharmacology, and clinical effect of the first prototype anticancer polymer therapeutic. En: Neocarzinostatin: The Past, Present, and Future of an Anticancer Drug (eds. Maeda, H., Edo, K. & Ishida, N.) Springer Verlag, Berlin, pp 227-267.

[41]. Konno T & Maeda H. 1987. Targeting chemotherapy of hepatocellular carcinoma: arterial administration of SMANCS/lipiodol. En: Neoplasma of the liver Okada K, Ishak KG (Eds) New York: 343-52.

[42]. Davis F F. 2002. Adv. Drug Del. Rev. Vol 54: 457-458.

[43]. Veronese F M, Harris J M (Eds.). 2002. Adv. Drug Deliv.Rev. 54 (No. 4) número completo.

[44]. Fuertges F & Abuchowski A. 1990. J. Cont. Rel. Vol 11: 139-148.

[45]. Graham M L. 2003. Adv. Drug Deliv. Rev. Vol 55: 1293-1302.

[46]. Ho D H, *et al*. 1986. Drug Metab. Disposit. Vol 14: 349-352.

[47]. Kurtzberg J, Moore J O, Scudiery D & Franklin A. 1988. Proc. Am. Assoc. Cancer Res. Vol 29: 213.

[48]. Abshire T C, Pollock B H, Billett A L *et al*. 2000. Blood Vol 96: 1709-171.

[49]. Cheng P N. *et al*. 2005. Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 96, abstract 3179.

[50]. Delman K A *et al*. 2005. Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 96, abstract 4139.

[51]. Unge, C. *et al*. 2005. Proc. of the Amer. Soc. Clin. Oncol., abstract 3130.

[52]. Tanaka H, Satake-Ishikawa R, Ishikawa M. *et al*. 1991. Cancer Res. 51, 3710-3714.

[53]. Molineux G. 2004. Curr. Pharm. Des. Vol 10: 1235-1244.

[54]. Wang Y-S. *et al*. 2002. Adv. Drug Del. Rev. Vol 54: 547-570.

[55]. Bukowski R, *et al*. 2002. J. Clin. Oncol. Vol 20: 3841-3849.

[56]. Katre N V, Knauf M J & Laird W J. 1987. Proc. Natl. Acad. Sci. Vol 84: 1487-1491.

[57]. Goodson R J & Katre N V. 1990. Biotechnology Vol 8: 343-346.

[58]. Zimmerman R J, Aukerman S L, Katre N V *et al*. 1989. Cancer Res. Vol 49: 6521-6528.

[59]. Holmes F A, *et al*. 2002. Ann. Oncol. Vol 13: 903-909.

[60]. Reddy K R, Modi M W & Pedder S. 2002. Adv. Drug Del. Rev. Vol 54: 571-586.

[61]. Flaherty L, Heilbrun L, Marsack C. & Vaishampayan U N. 2005. Proc. Am. Soc Clinical Oncol. 7562.

[62]. Groves M D. *et al*. 2005. Proc. Am. Soc Clinical Oncol. 1519.

[63]. De Duve C. *et al*. 1974. Biochem. Pharmacol. Vol 23: 2495-531.

[64]. Ringsdorf H. 1975. J. Polymer Sci. Polymer Symp. Vol 51: 135-153.

[65]. Seymour L W. *et al*. 1995. Eur. J. Cancer Vol 31: 766-770.

[66]. Duncan R. 2005. N-(2-Hydroxypropyl)methacrylamide copolymer conjugates. En: Polymeric Drug Delivery Systems (Ed. Kwon, G.S.) Marcel Dekker, Inc., New York, pp 1-92.

[67]. Rihova B. *et al*.2003. Adv. Expt Med.Biol. Vol 519: 125-143.

[68]. Shiah J-G. *et al*. 2001. J. Control. Rel. Vol 74: 249-253.

[69]. O'Hare K.B. *et al*. 1993. J. Drug Target. Vol 1: 217–229.

[70]. Wan K W, Vicent M J, Duncan R. 2003. Proc. Int'l Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. Vol 30: 491–492

[71]. Seymour L W, *et al*. 2002. J. Clin.Oncol. Vol 20: 1668-1676.

[72]. Brocchini S & Duncan R. 1999. Pendent drugs, release from polymers. En: Encyclopaedia of Controlled Drug Delivery (ed. Mathiowitz, E.) (John Wiley & Sons, New York, pp 786-816.

[73]. Meerum Terwogt J M, *et al*. 2001. Anti-Cancer Drugs 12, 315-323.

[74]. Schoemaker N E, *et al*. 2002. Brit. J. Cancer Vol 87: 608-614.

[75]. Danauser-Reidl S, *et al*. 1993. Invest. New Drugs Vol 11: 187-195.

[76]. Kumazawa E & Ochi Y. 2004Cancer Sci. Vol 95: 168-175.

[77]. Rowinsky E K, *et al*. 2003. J. Clin. Oncol. Vol 21: 148-157.

[78]. Greenwald R B. *et al*. 2003. Adv. Drug Del. Rev. Vol 55: 217-250.

[79]. Vasey P. *et al*. 1999. Clin. Cancer Res. Vol 5: 83-94.

[80]. Gianasi E, *et al*. 2002. J. Drug Targeting Vol 10: 549-556.

[81]. Rademaker-Lakhai J M, *et al*. 2004. Clin. Cancer Res. Vol 10: 3386-3395.

[82]. Rice J R, & Howell S B. 2004. Drug Future Vol 29: 561-565.

[83]. Rihova B. *et al*. 2003. J. Cont. Rel. Vol 91:1-16.

[84]. Singer JW, *et al*. 2005. Anti-Cancer Drugs Vol 16: 243-254.

[85]. Singer JW, *et al*. 2003Adv. Exp. Med. Biol. Vol 519: 81