

Mejora de la hidrosolubilidad de antitumorales inhibidores de topoisomerasa I mediante la formación de complejos de inclusión con ciclodextrinas

Víctor E. Cervera-Carrascón

Grado en Farmacia. Universidad Complutense de Madrid
vcervera@estumail.ucm.es

Ana Isabel Olives Barba. Víctor González-Ruiz.

Sección Departamental de Química Analítica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.
aiolives@farm.ucm.es

Resumen: las ciclodextrinas (CDs) se utilizan en distintas formulaciones farmacéuticas por su capacidad de liberación de la molécula huésped específicamente en una zona u otra del tracto gastrointestinal. La absorción de principios activos se ve significativamente incrementada gracias a la solubilización de los mismos mediante la formación de complejos de inclusión con ciclodextrinas. La camptotecina es el cabeza de serie de un grupo de antitumorales con actividad inhibitoria sobre la topoisomerasa I, pero tiene baja hidrosolubilidad y estabilidad química. Por lo que en este trabajo, se plantean procedimientos de obtención de los complejos entre ciclodextrinas y camptotecina, lo cual supondrá un aumento en la biodisponibilidad del fármaco. Para verificar la formación de los complejos de inclusión entre los antitumorales y la β -CD e HP- β -CD, se han estudiado las muestras por RMN demostrándose la inclusión de los fármacos en las cavidades de las CDs.

Palabras clave: Ciclodextrinas. Inhibidores de Topoisomerasa I. Mejora de la biodisponibilidad.

INTRODUCCIÓN

Antitumorales con actividad inhibidora de topoisomerasa I

Existen diferentes fármacos antitumorales con mecanismos de acción muy variados, desde los “clásicos” anti-metabolitos hasta los más novedosos basados en el empleo de anticuerpos monoclonales. Existen varios grupos de fármacos antitumorales con actividad inhibitoria sobre la topoisomerasa I (Fig. 1).

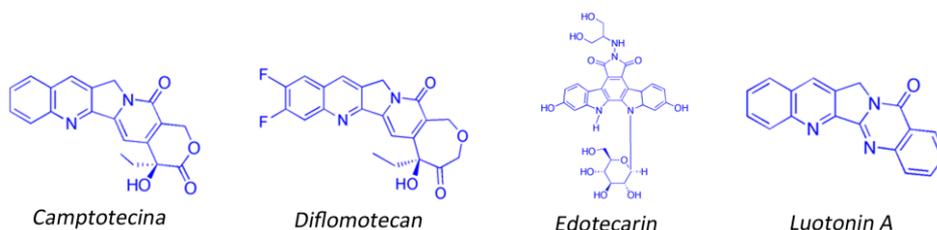
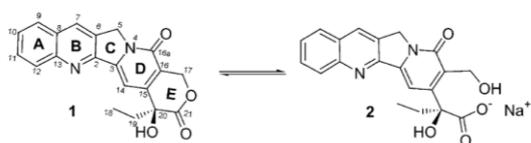


Figura 1. Estructuras de algunos inhibidores de Topoisomerasa I.

La topoisomerasa I cataliza la relajación del ADN superenrollado. Este requisito es imprescindible para que se produzcan la replicación y la transcripción del ADN. Entre los antitumorales inhibidores de topoisomerasa, sobresale la camptotecina, que es un potente antitumoral de origen natural y que fue aislada por primera vez en 1958 ⁽¹⁾ de los extractos de *Camptotheca acuminata*. En el caso de la camptotecina, se sabe que forma un complejo ADN-topoisomerasa I no existe unanimidad en lo que al modo de unión al complejo ⁽²⁾ se refiere. Además de la camptotecina, en la Fig. 2, se presentan otros inhibidores de la topoisomerasa I.

La camptotecina se ha utilizado en estudios preclínicos e investigaciones clínicas como “cabeza de serie”. Sin embargo, la baja hidrosolubilidad e inestabilidad química de la molécula plantea un serio problema para su uso terapéutico. Para mejorar la solubilidad y la distribución del principio activo en el organismo se utilizó la sal de sodio correspondiente (Fig. 2). Sin embargo, esta modificación conlleva un aumento en la hidrosolubilidad, pero un descenso en la actividad con respecto a la camptotecina así como un aumento de la toxicidad y algunos efectos secundarios no predecibles. ⁽³⁾ Por otra parte la síntesis de otros derivados de la camptotecina con mejor actividad y biodisponibilidad, tal es el caso del topotecan (Hycamtin®), el irinotecan (Camptosar®) u otros mostrados en la Fig. 2.



Compuesto	Fase clínica
Camptotecina	Cabeza de serie
Irinotecan	Aprobado
Topotecan	Aprobado
Diflomotecan	Fase II
Luotonin A	Preclínica
Edotecarin	Fase II

Figura 2. Estructura de la camptotecina (1) y la sal de sodio hidrosoluble (2). Relación de los anti-tumorales inhibidores de topoisomerasa I y su estatus en el desarrollo farmacéutico ⁽⁴⁾

Las ciclodextrinas , cavitando que mejoran las propiedades biofarmacéuticas

Las CDs se utilizan en distintas formulaciones farmacéuticas para mejorar la

solubilidad, estabilidad y biodisponibilidad del principio activo. Entre sus ventajas, son fáciles de producir a partir de fuentes naturales. Desde el punto de vista biofarmacéutico las CDs permiten la liberación de la molécula huésped específicamente en una zona u otra del tracto gastrointestinal.⁽⁵⁾ Las CDs naturales constan de un número característico de unidades de glucosa en el anillo de las mismas (seis la α -CD, siete la β -CD, ocho la γ -CD) y por ende el diámetro de ellas. Según la molécula a incluir y el complejo que se quiera formar se elegirá una u otra ciclodextrina (Fig. 3).

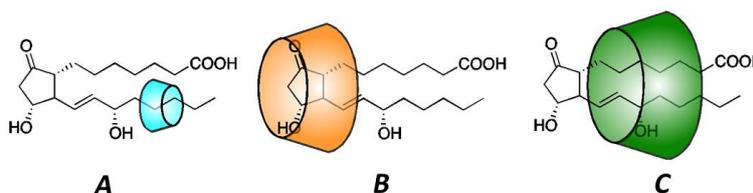


Figura 3. Modelos de complejos formados entre prostaglandina E₁ y tres ciclodextrinas naturales (A: α -CD, B: β -CD, C: γ -CD).

Las CDs naturales tienen una hidrosolubilidad limitada (especialmente la β -CD) sin embargo, la HP- β -CD ((2-hidroxipropil)- β -ciclodextrina), cuenta con una excelente solubilidad tanto en agua como en disolventes orgánicos. Este aumento de solubilidad con respecto a la β -CD, además de las ventajas del aumento de la biodisponibilidad del fármaco, también consigue evitar un inconveniente de la β -CD natural, que es la precipitación de complejos de la β -CD formados con otros principios activos y compuestos naturales de elevada lipofilia. La absorción de principios activos se ve significativamente incrementada gracias a la solubilización de los mismos mediante la formación de complejos de inclusión con ciclodextrinas.

OBJETIVOS

Se propone el ensayo de distintas condiciones experimentales para la obtención de complejos de inclusión entre fármacos antitumorales y β -CD o HP- β -CD con la finalidad de mejorar la solubilidad de dichos fármacos e incrementar su biodisponibilidad. Para verificar la formación de los complejos de inclusión, nos propusimos la caracterización de los mismos por técnicas de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN.

PARTE EXPERIMENTAL

Los complejos de inclusión camptotecina/ciclodextrina se han obtenido de acuerdo con la Fig. 4. Los espectros de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN de los complejos fueron

obtenidos un espectrómetro Bruker Avance III 700 MHz, empleando como disolventes d_6 -DMSO y D_2O .

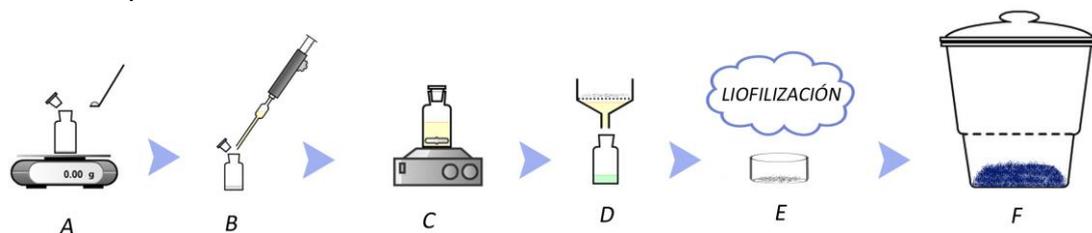


Figura 4. Metodología 1 de preparación de complejos. A: pesada de compuestos. B: adición de 2 mL de agua. C: agitación magnética (siete días). D: filtración y lavado de la muestra. E: liofilización. F: almacenado de las muestras hasta su análisis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los complejos de inclusión con ciclodextrinas pueden estudiarse mediante distintas técnicas analíticas. La resonancia magnética nuclear (RMN) en sus diferentes modalidades (protónica, carbono 13, así como espectros bidimensionales) es la técnica que permite caracterización estructural de los mismos. Además la RMN permite verificar que se haya producido un verdadero proceso de inclusión gracias a las alteraciones observadas en las señales de los protones de las unidades de glucosa orientados hacia el interior de la cavidad de las ciclodextrinas así como las modificaciones en las señales (de protón o carbono) de la molécula de fármaco alojada en el interior de dicha cavidad. Por otra parte, estas técnicas de RMN, al ser metodologías no destructivas, son extraordinariamente valiosas para comparar la efectividad de la formación de complejos de inclusión empleando diferentes procedimientos de preparación de los mismos.

Así, empleando el procedimiento de preparación descrito en la Fig. 4 ⁽⁶⁾ obtuvimos un bajo rendimiento, ya que los sucesivos lavados con agua y etanol conllevan una pérdida muy elevada no solo de la ciclodextrina y el fármaco libre, sino del complejo de inclusión. Por ello, y en consecuencia con lo descrito en la bibliografía, ⁽⁷⁾ optamos por la preparación de los complejos de inclusión evitando los lavados.



Figura 5. Preparación de los complejos de inclusión según la metodología 2.

Una vez formados los complejos se obtuvieron los correspondientes espectros de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN con la finalidad de caracterizar los complejos de inclusión y verificar la eficacia de la metodología de preparación de los mismos así como la mejora en la solubilidad de los fármacos.

En la Fig. 6 se muestran los espectros de RMN obtenidos en unas condiciones experimentales tales que las concentraciones del fármaco (el antitumoral usado, camptotecina) y la HP- β -CD están en un intervalo próximo a lo que se encontrarán una vez formados los complejos de inclusión. Las variaciones en los valores de desplazamiento químico (δ , ppm) de los reactivos libres con respecto a las que se observan en los espectros correspondientes en los complejos de inclusión demuestran que ha tenido lugar el proceso de inclusión.

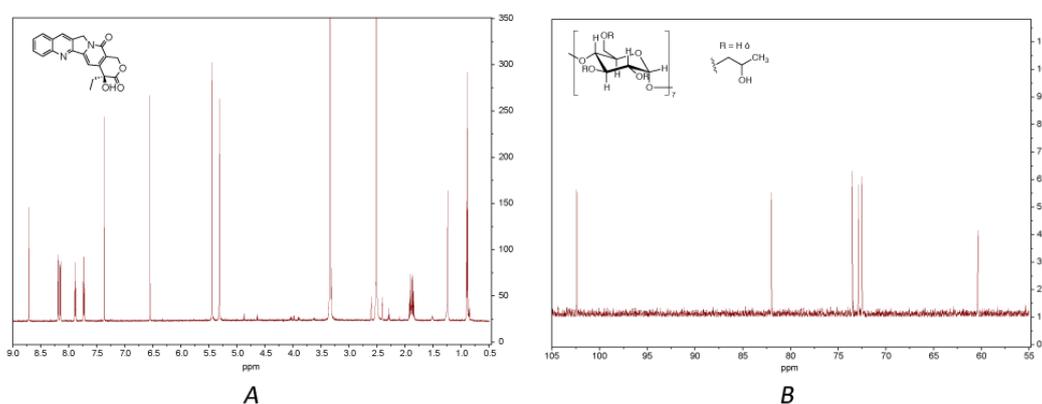


Figura 6. Espectros obtenidos. A: ^1H -RMN de camptotecina en d_6 -DMSO. B: ^{13}C -RMN de la HP- β -CD en d_6 -DMSO.

Las condiciones experimentales empleadas en la formación de los complejos ponen de manifiesto el bajo rendimiento obtenido con la metodología **1** con respecto a la metodología **2**. Asimismo la formación de complejos de inclusión conlleva un considerable incremento en la solubilidad de los antitumorales estudiados tal y como se muestra en la Tabla 2.

Compuesto	Mejora de la solubilidad
Camptotecina	4,65 veces
Luotonina A	8,77 veces

Tabla 2. Mejora en la hidrosolubilidad de los compuestos al formar complejos con la HP- β -CD medida con técnicas de fluorescencia.⁽⁸⁾

CONCLUSIONES

Podemos afirmar que la formación de complejos de inclusión con ciclodextrinas mejora apreciablemente la hidrosolubilidad de los antitumorales estudiados, lo cual tiene importantes beneficios en lo que a la biodisponibilidad y estabilidad de estos compuestos se refiere.

Se han ensayado dos metodologías de preparación de los complejos de inclusión entre los antitumorales y las β - e HP- β -CD y se han estudiado por RMN demostrándose la inclusión de los fármacos en las cavidades de las CDs.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wall ME. *Chronicles of Drug Discovery*. Lednicer D (Editor). American Chemical Society: Washington D.C., 1993; Vol. 3, p 327.
2. Pommier Y, Kohlhagen G, Kohn KW, Leteurtre F, Wani MC, Wall M E. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1995; 92; 8861.
3. Thomas CJ, Rahier NJ, Hecht SM. Camptothecin: current perspectives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 12. 2004; 1585–1604.
4. Teicher BA et al., *Biochem. Pharmacol.* 2008; 75; 1262-1271.
5. Uekama K, Hirayama F, Arima H. *Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins and Their Derivatives*. Dodziuk H (editor). *Cyclodextrins and Their Complexes*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co; 2006.
6. Zhu X, Tan W, Zhou F, Li Z, Duan L. The effect of phosphate buffer solutions on uniconazole complexation with hydroxypropyl- β -cyclodextrin and methyl- β -cyclodextrin. *J Incl Phenom Macrocycl Chem.* 2011.
7. Maeda H, Ogawa Y, Nakayama H. Inclusion complex of melatonin with modified cyclodextrins. *J Incl Phenom Macrocycl Chem.* 2012.
8. González-Ruiz V, Ródenas S, Martín MA, Olives AI. Miniaturized fluorescence assay for studying the effect of hydroxypropyl- β -cyclodextrin on the aqueous solubility of the alkaloid luotonin a and some analogues. *Luminescence.* 2012; 27;545-546

Recibido: 7 noviembre 2013.

Aceptado: 24 febrero 2014.