



# POTENCIANDO EL VALOR DE LAS **PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS**

La terapéutica de proteínas representa un gran campo para el tratamiento de muchas enfermedades, habiendo demostrado su potencial en los últimos años; especialmente desde el “boom” de la producción de proteínas recombinantes.



**Laura Taina González**, Industrial PhD Student en DIVERSA Technologies

## EL POTENCIAL DE LAS PROTEÍNAS PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES

En comparación con los fármacos tradicionales, las proteínas aportan **una alta biocompatibilidad y biodegradabilidad**. Estos hechos están asociados con un **perfil de seguridad alto**. Además, las proteínas presentan una actividad mucho más específica, directamente relacionada con su interacción directa con la diana de interés. Sin embargo, estas moléculas pueden sufrir la pérdida de la estructura (lo que se conoce como desnaturalización) **y tener una vida media corta**, debido sobre todo a la degradación enzimática, todo asociado con la pérdida de actividad. Además, su **baja permeabilidad de membrana** impide su llegada intracelular. Todos estos inconvenientes se pueden superar utilizando sistemas de liberación (drug delivery systems, “DDS”) que pueden transportar, proteger y entregar el principio activo.

## ¿QUÉ TIPOS DE NANOPARTÍCULAS SE PUEDEN UTILIZAR PARA LA LIBERACIÓN DE PROTEÍNAS?

Entre los diferentes tipos de formulaciones que se pueden usar para transportar proteínas -hidrogeles, fibras, micropartículas, emulsiones o películas-, las micro y nanopartículas representan un enfoque potencial para lograr una liberación de proteínas dirigida y controlada. En concreto, el término nanomedicina comprende formulaciones en escala nanométrica compuestas de materiales orgánicos como lípidos o polímeros, o materiales inorgánicos como metales.

Una de las categorías en auge son las nanoemulsiones lipídicas, que tienen la capacidad de asociar una gran variedad de moléculas. Se componen principalmente de un núcleo de naturaleza oleosa, y de otro excipiente que estabiliza la emulsión. El hecho de que ambos sean componentes naturalmente presentes en el cuerpo proporciona un

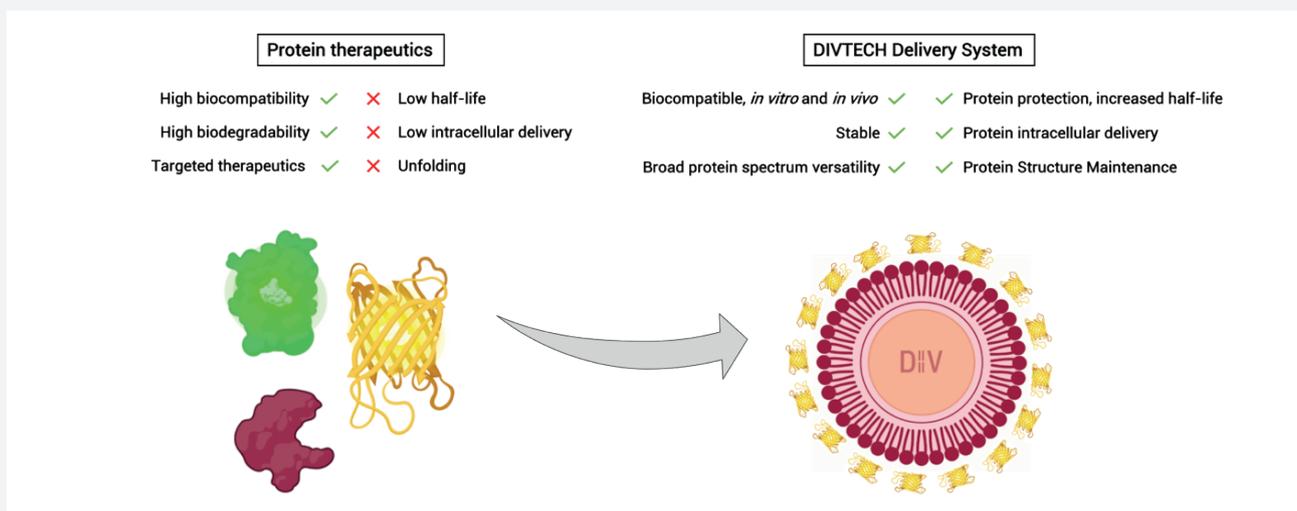
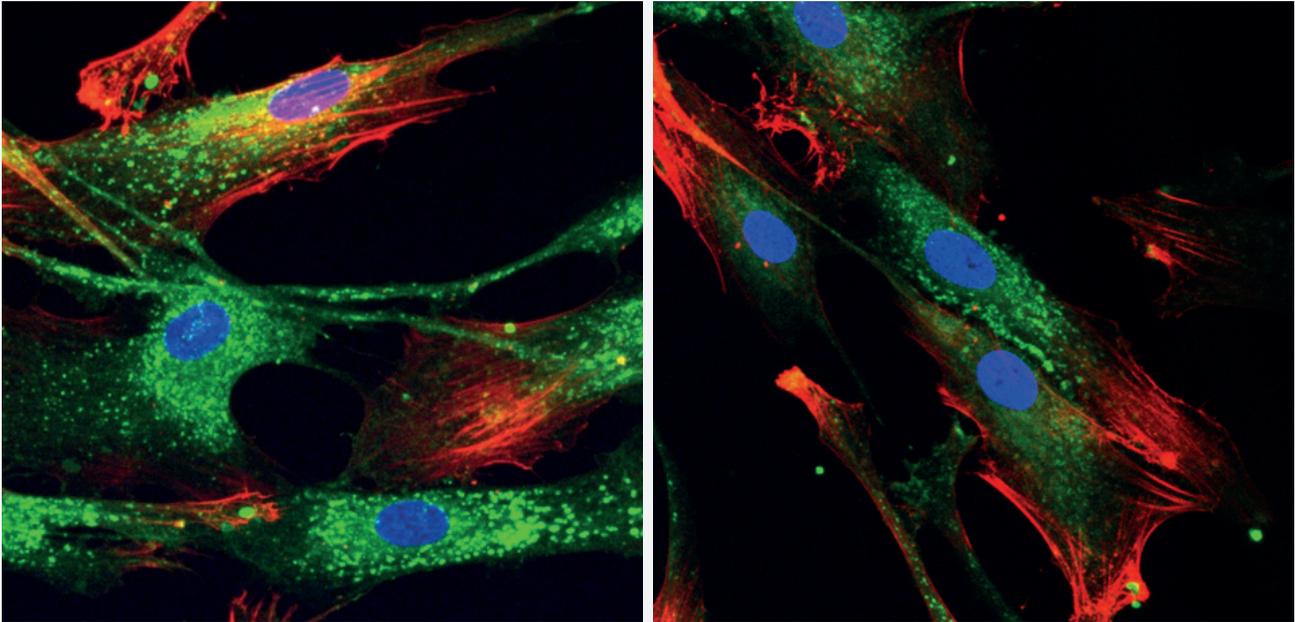


Figura 1. El uso de DDS facilita la terapéutica de proteínas.



**Figura 2.** Internalización celular en fibroblastos de nanoemulsiones lipídicas marcadas con FluoGreen observados bajo microscopía confocal tras 2 horas de incubación. Azul: núcleo, rojo: fibronectina, verde: FluoGreen.

alto perfil de biocompatibilidad y seguridad. La asociación de proteínas a las nanoemulsiones se ha realizado tradicionalmente mediante el uso de componentes catiónicos, para acomplejar proteínas aniónicas. Sin embargo, una estrategia novedosa ha sido incorporar componentes que permitan unir cualquier tipo de proteína, independientemente de su punto isoeléctrico y del pH del medio de reacción.

### ¿QUÉ CARACTERÍSTICAS DEBE REUNIR UN BUEN “DRUG DELIVERY SYSTEM”?

Como se mencionó anteriormente, el uso de un sistema de liberación adecuado puede mejorar la entrega de proteínas y aumentar significativamente su potencial terapéutico. En este sentido, hay que tener en cuenta los siguientes aspectos:

#### ENTREGA INTRACELULAR EFICIENTE

La naturaleza fisicoquímica de la mayoría de las proteínas impide la endocitosis y, por supuesto, la difusión pasiva a través de las membranas celulares. De esta manera, el uso de proteínas terapéuticas se restringe a objetivos extracelulares o de membrana, ignorando posibles dianas farmacológicas intracelulares. El uso de nanopartículas amplía el uso de proteínas que normalmente no serían capaces de atravesar las membranas celulares.

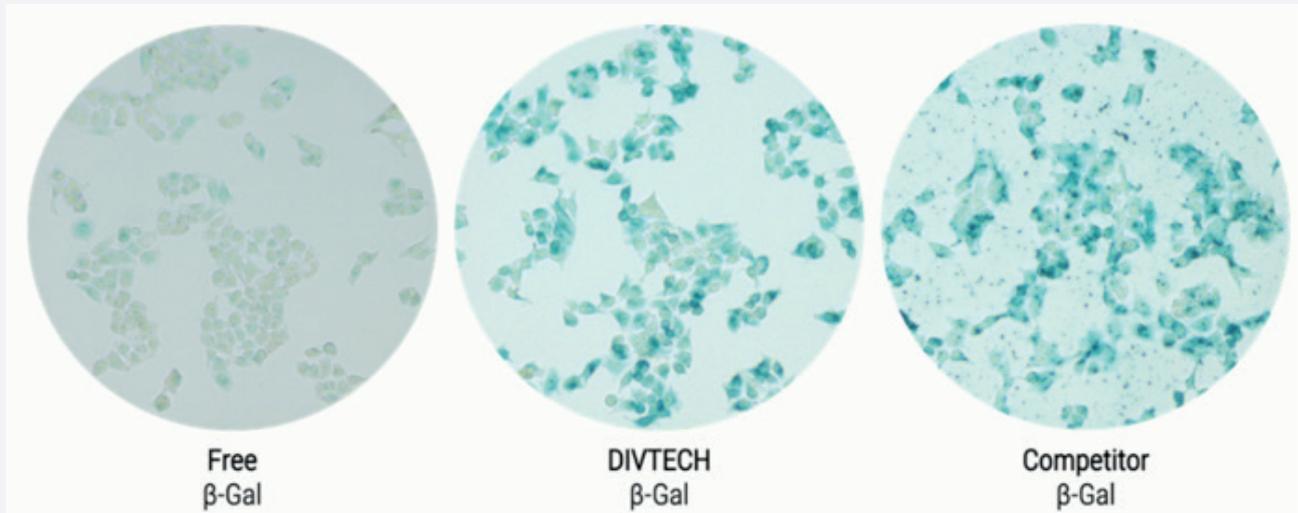
Con el fin de dar solución a este problema y poder seguir la proteína de interés en ensayos celulares, se concibieron las nanoemulsiones lipídicas “FluoGreen”. Están diseñadas específicamente para ayudar al investigador a visualizar el sistema de liberación conteniendo su proteína de interés por una amplia variedad de plataformas fluorescentes: citometría de flujo, ensayos de microplacas, fluorescencia y/o microscopía confocal; en menos de dos horas a  $Ex/Em = 495/503$  nm (**Figura 2**).

#### MANTENIMIENTO DE LA ACTIVIDAD PROTEICA

Este es, por supuesto, uno de los efectos más importantes a considerar si la tecnología está cumpliendo su propósito. Desde este punto de vista, estas nanoemulsiones lipídicas han demostrado que son capaces de liberar una amplia gama de proteínas como  $\alpha$ -galactosidasa, Anakinra o RLuc, entre otras, manteniendo la actividad.

#### BAJA TOXICIDAD

Un factor importante que debe estar bien establecido es la toxicidad del vehículo de administración de fármacos. Desde este punto de vista, las partículas que contienen lípidos catiónicos (es decir, lípidos utilizados para acomplejar las proteínas) deben diseñarse cuidadosamente para minimizar la citotoxicidad a las dosis requeridas. Dichas nanoemulsiones lipídicas “Anionic” han sido ampliamente caracterizadas para conseguir los mejores



**Figura 3.** Entrega intracelular de la enzima β-galactosidasa a células L3.6pl utilizando nanoemulsiones lipídicas.

resultados sin causar citotoxicidad.

Además, las nanoemulsiones lipídicas que no utilizan una estrategia de lípidos catiónicos, también han mostrado mejores resultados en comparación con otros “drug delivery systems”. La actividad de la β-galactosidasa (señal azul) aumenta significativamente cuando es administrada por nanoemulsiones emulsiones lipídicas no mostró efectos tóxicos en comparación con otros “drug delivery systems” disponibles comercialmente donde se observan restos celulares y cambios en la morfología celular (Figura 3).

Por encima de todo esto, el uso de sistemas liberación in vivo es nuevamente un factor importante a considerar al elegir una plataforma de entrega. Muchas tecnologías de administración diseñadas para la investigación no son capaces de satisfacer plenamente las dosis requeridas. Por el contrario, estas nanoemulsiones lipídicas mostraron una gran biocompatibilidad en ratones a dosis de 30 y 60 mg / kg en inyecciones de venas de cola simples y consecutivas.

**VERSATILIDAD**

El uso de lípidos catiónicos como agentes acomplejantes es una estrategia muy conocida y establecida, sin embargo, también se limita, por naturaleza, a proteínas



*La búsqueda de un drug delivery system ha de ser una de las prioridades en el proceso de lead optimization*

aniónicas a pH fisiológico 7,4 (es decir, proteínas con un pI < 6). Sin embargo, las proteínas reporteras como la luciferasa o la GFP están cargadas positivamente a pH 7,4. De este modo, estas nanoemulsiones lipídicas están diseñadas para superar este importante inconveniente, ya que no dependen del punto isoeléctrico.

**PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS CON POTENCIAL, PERO QUE CARECE DE UNA ESTRATEGIA DE ADMINISTRACIÓN EFECTIVA**

Vistas las ventajas del uso de proteínas como herramienta terapéutica, sólo queda decidir el “drug delivery system” para que puedan llegar al compartimiento intracelular con una alta actividad y baja citotoxicidad.

La búsqueda de un “drug delivery system” tiene que ser una de las prioridades durante el proceso de “lead optimization”. Algunas tecnologías de “delivery” se pueden probar como **reactivos “ready-to-go”**, diseñados específicamente para este propósito y que son muy fáciles de usar.

Si tu proyecto ya está más avanzado y tienes problemas de “delivery” en fases preclínicas más avanzadas, también se pueden obtener **formulaciones a medida**. Un enfoque más personalizado, donde se diseña un proyecto específico para tu molécula terapéutica ●

..... 20 - 21 SEPTIEMBRE 2023

PABELLÓN 14  
IFEMA  
MADRID

***Cosméticaforu***

***farmaforu***

***Labforu***

..... CON LAS ÁREAS ESPECIALIZADAS .....

***Health+Researchforu***   ***Biotechforu***   ***Innovaforu***

***Cannabisforu***   ***Nutraforu***

**INFORMACIÓN** ☎ +34 91 630 85 91 / +34 672 050 625 ✉ info@farmaforum.es 🖱 farmaforum.es