

# Utilización de modelos celulares *in vitro* para la optimización de sistema de liberación controlada de antitumorales

María Jesús Garrido

Dpto. Farmacia y Tecnología Farmacéutica

Universidad de Navarra

## ¿Por qué sistemas *in vitro*?

- Permiten explorar y cuantificar procesos propiamente celulares además, de procesos o mecanismos debidos a la acción del agente que se ensaye.
- Es posible medir la evolución temporal de una respuesta concreta.
- Posibilidad de evaluar combinaciones farmacológicas.

### Principal Limitación

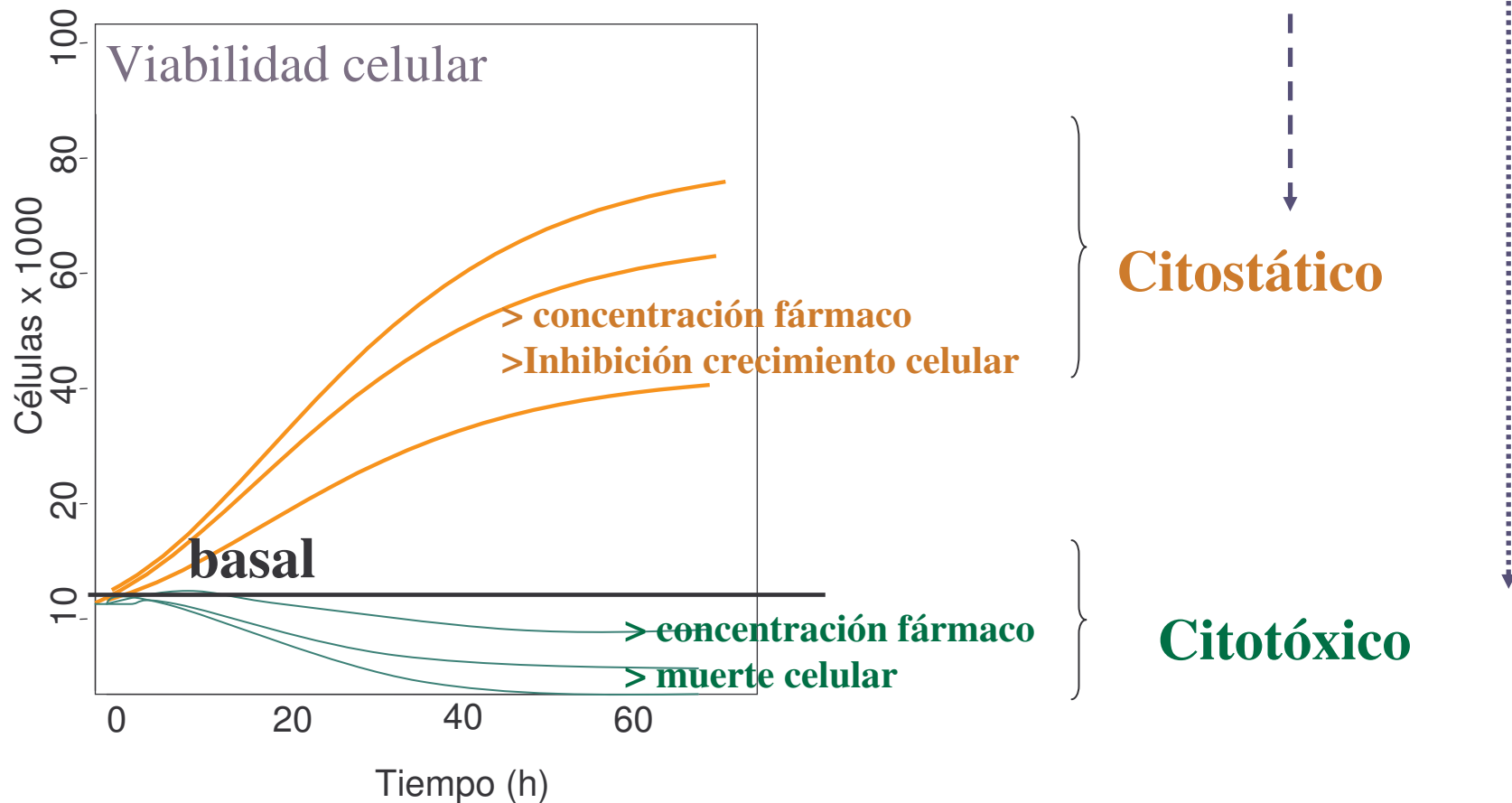
- Se ignoran procesos de regulación o feed-back debidos a la propia fisiología o fisiopatología del individuo.

# Antitumorales

- **Principales Mecanismos:**

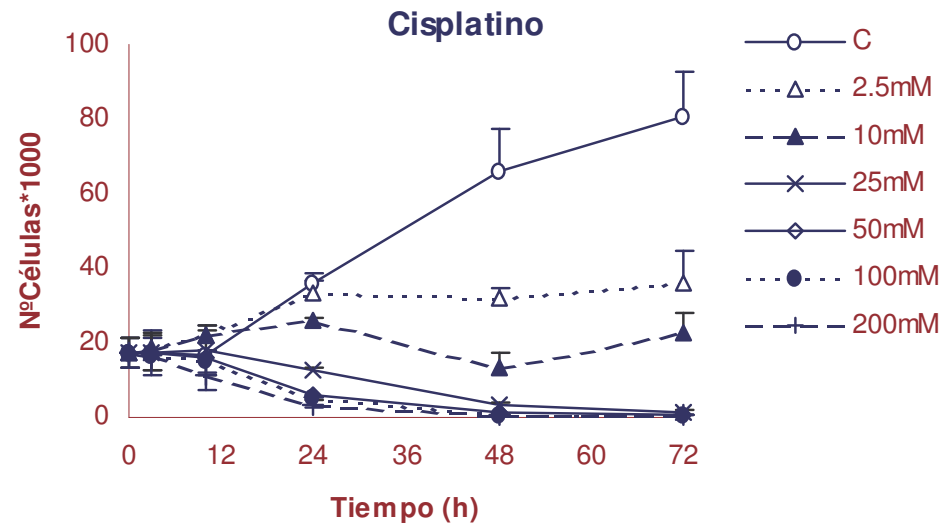
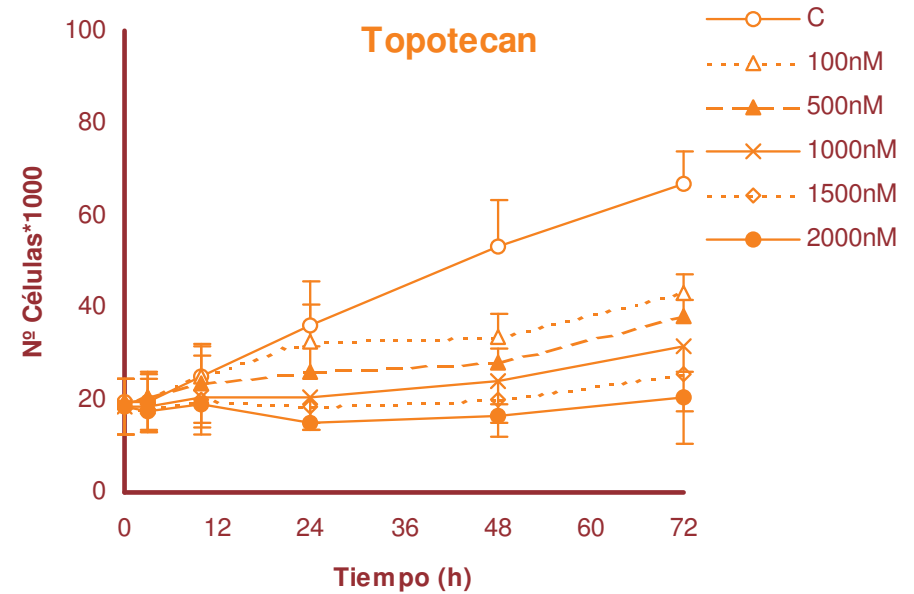
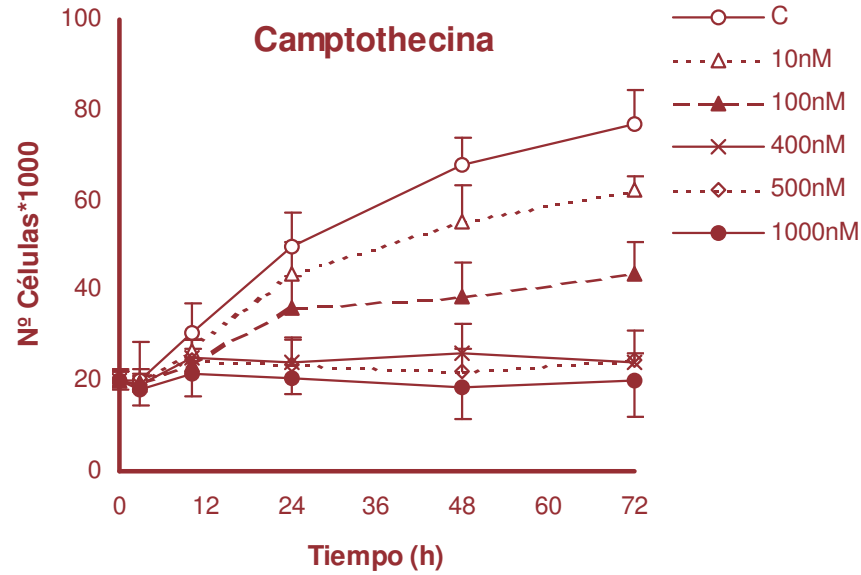
- Mecanismos Citostáticos
- Mecanismos Citotóxicos

*Mecanismo de  
Acción Fármaco*

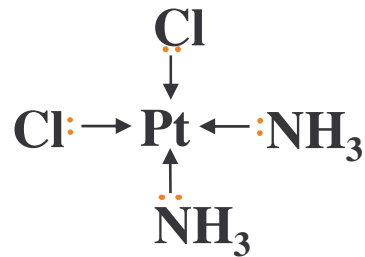


Tiempo de exposición al fármaco antitumoral

# Ejemplo de ambos mecanismos



**CISPLATINO  
(CDDP)**



## Cisplatino

- Agente alquilante → uniones de tipo covalente ADN
- Capacidad antitumoral en gran variedad de tumores sólidos (testículo, ovario, vejiga, pulmón ...)
- Eficacia limitada en cáncer de colon
- Alta toxicidad y fenómenos de resistencia

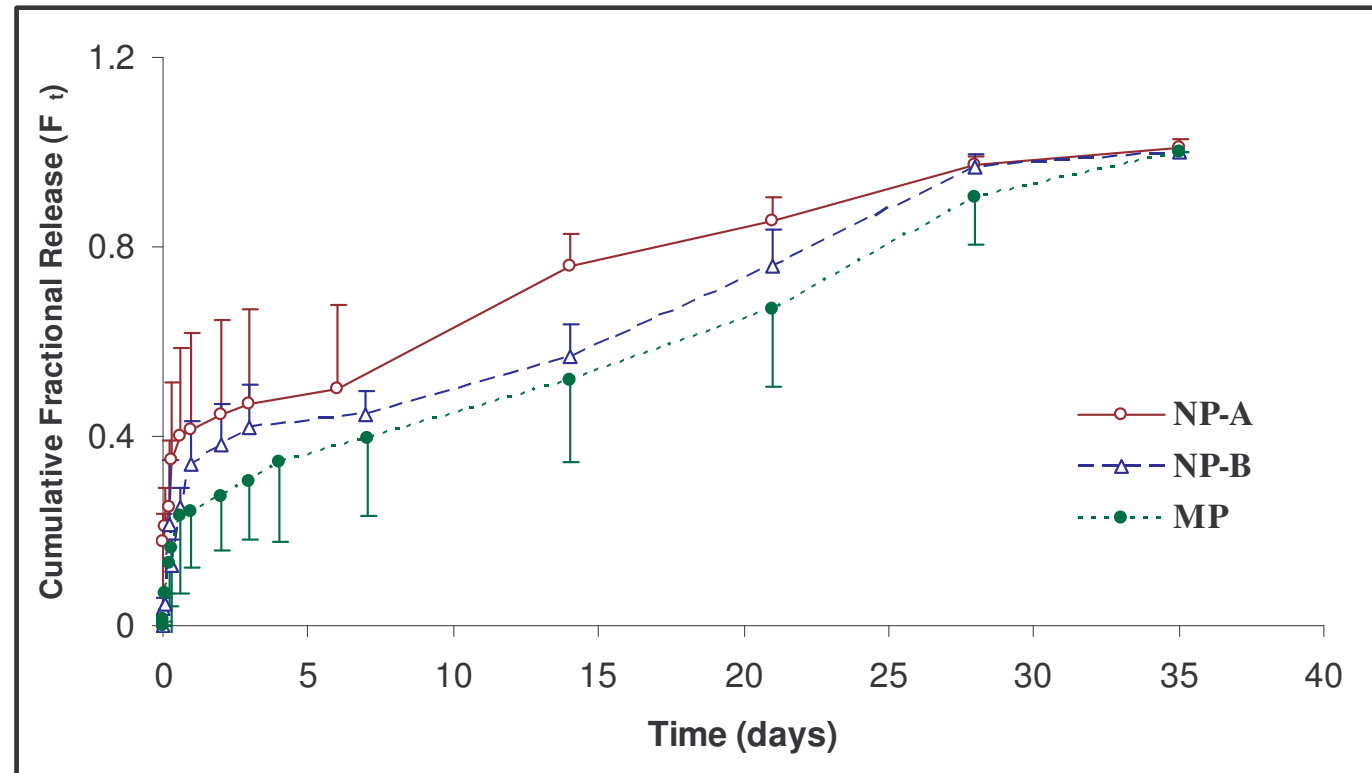
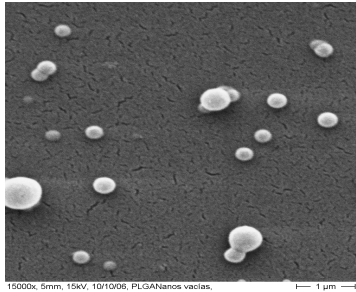
### Antecedentes:

- Administraciones continuas de niveles subterapéuticos causaban una activación mayor de apoptosis que una administración de dosis elevada.
- Nanopartículas de paclitaxel eran capaces de superar los fenómenos resistencia.

# Objetivos

- Desarrollar formulaciones de liberación controlada para disminuir la toxicidad y/o aumentar la eficacia del cisplatino.
- La caracterización *in vitro* del efecto antiproliferativo de las distintas formas de liberación controlada de cisplatino.
  - Combinando sistemas de cultivos celulares y técnicas de modelización matemática

## Caracterización de los perfiles de liberación de cisplatino desde las distintas formulaciones



## Ecuación

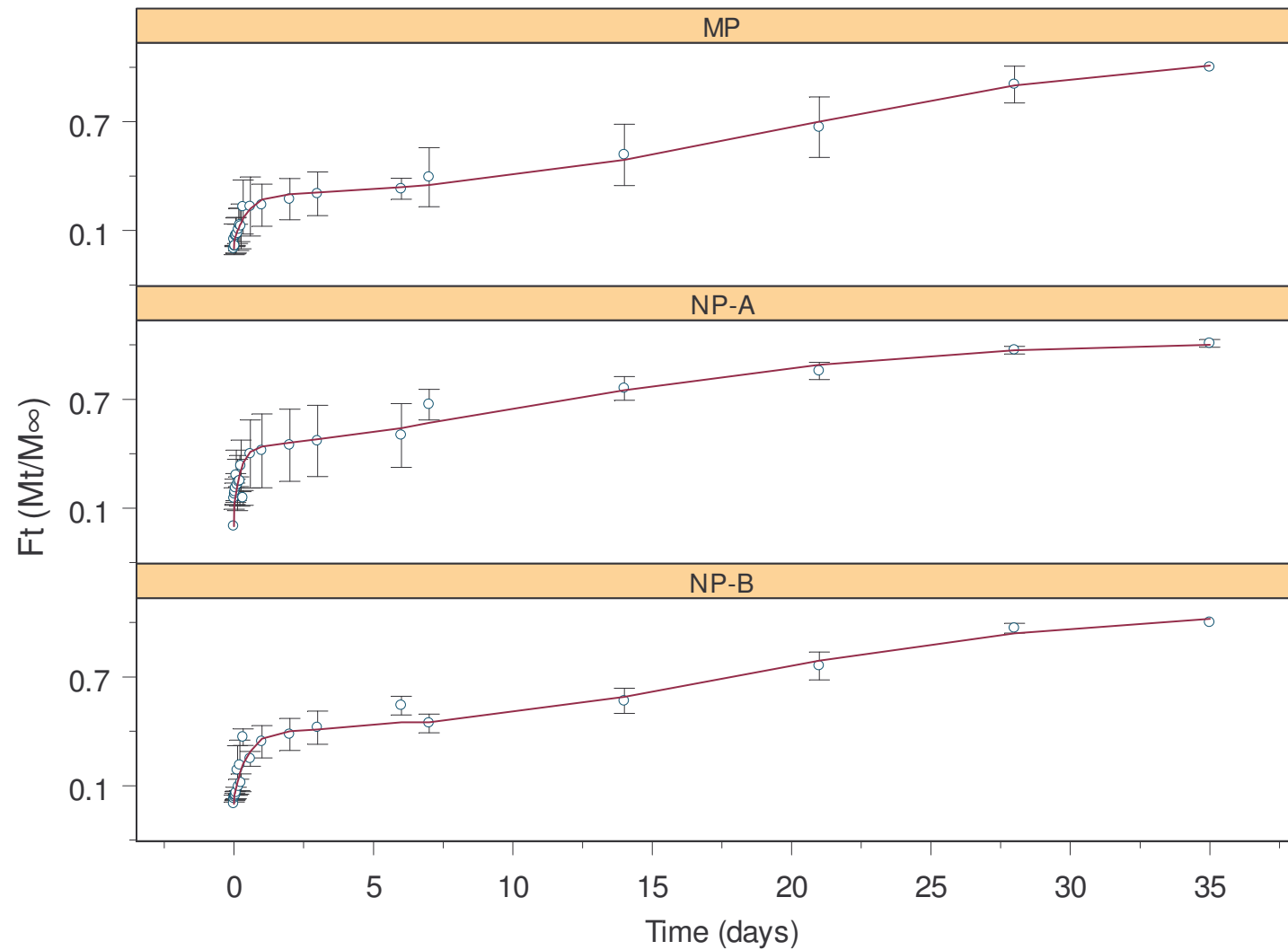
- Fase de difusión: A y  $k_1$
- Fase de entrada de agua a la matriz:  $T_{50}$
- Fase de degradación de la matriz: B y  $k_2$

$$\frac{M_t}{M_\infty} = A \times \left(1 - e^{-k_1 t}\right) + \frac{B}{\left(1 + e^{-k_2 (t - T_{50})}\right)}$$

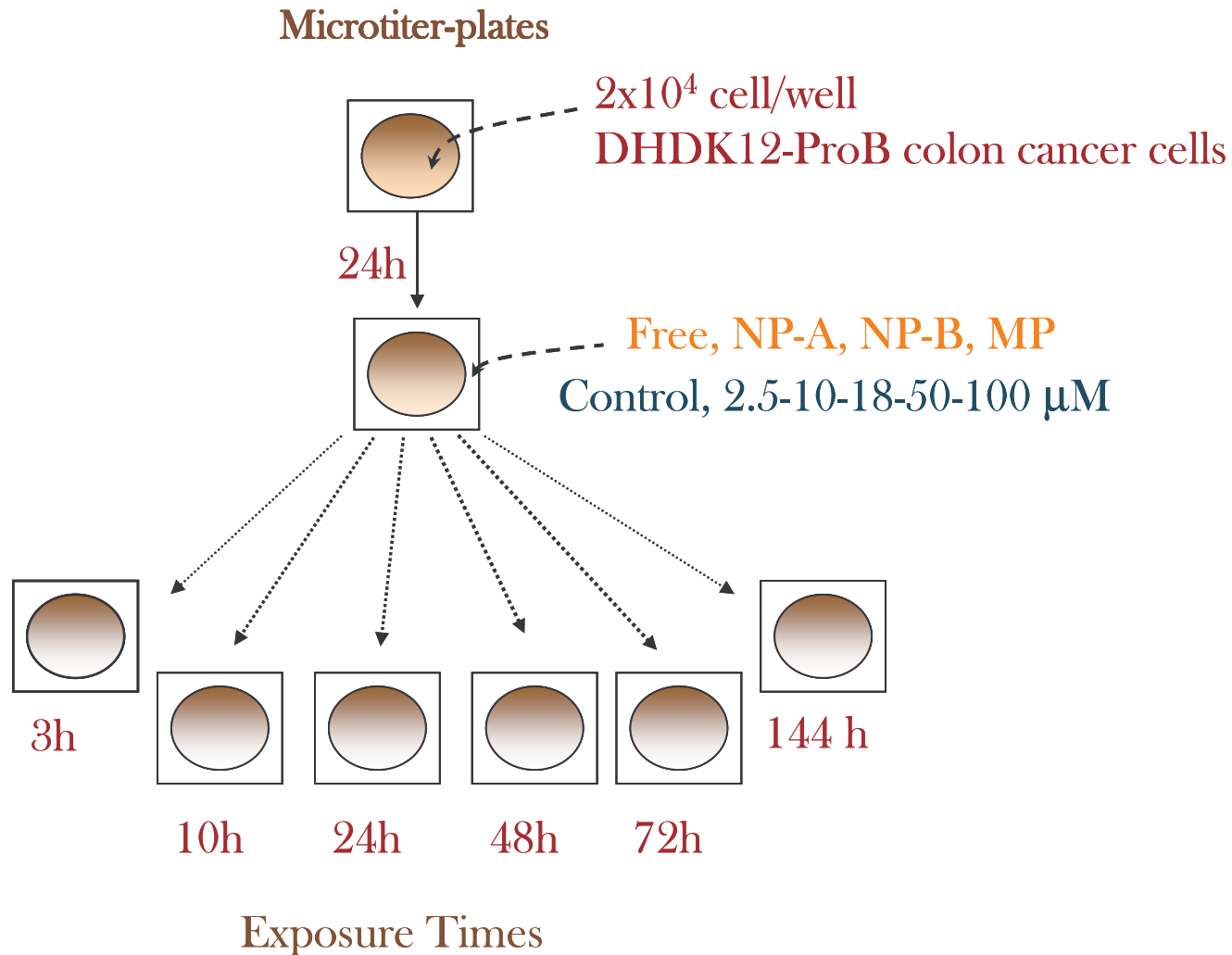
where, A is the fraction of drug released during the phase I,  $k_1$  is the release rate constant during this phase; B is the fraction of total drug released during the phase III,  $k_2$  is the release rate constant during this phase and  $T_{50}$  is the time taken to release 50% of entrapped drug



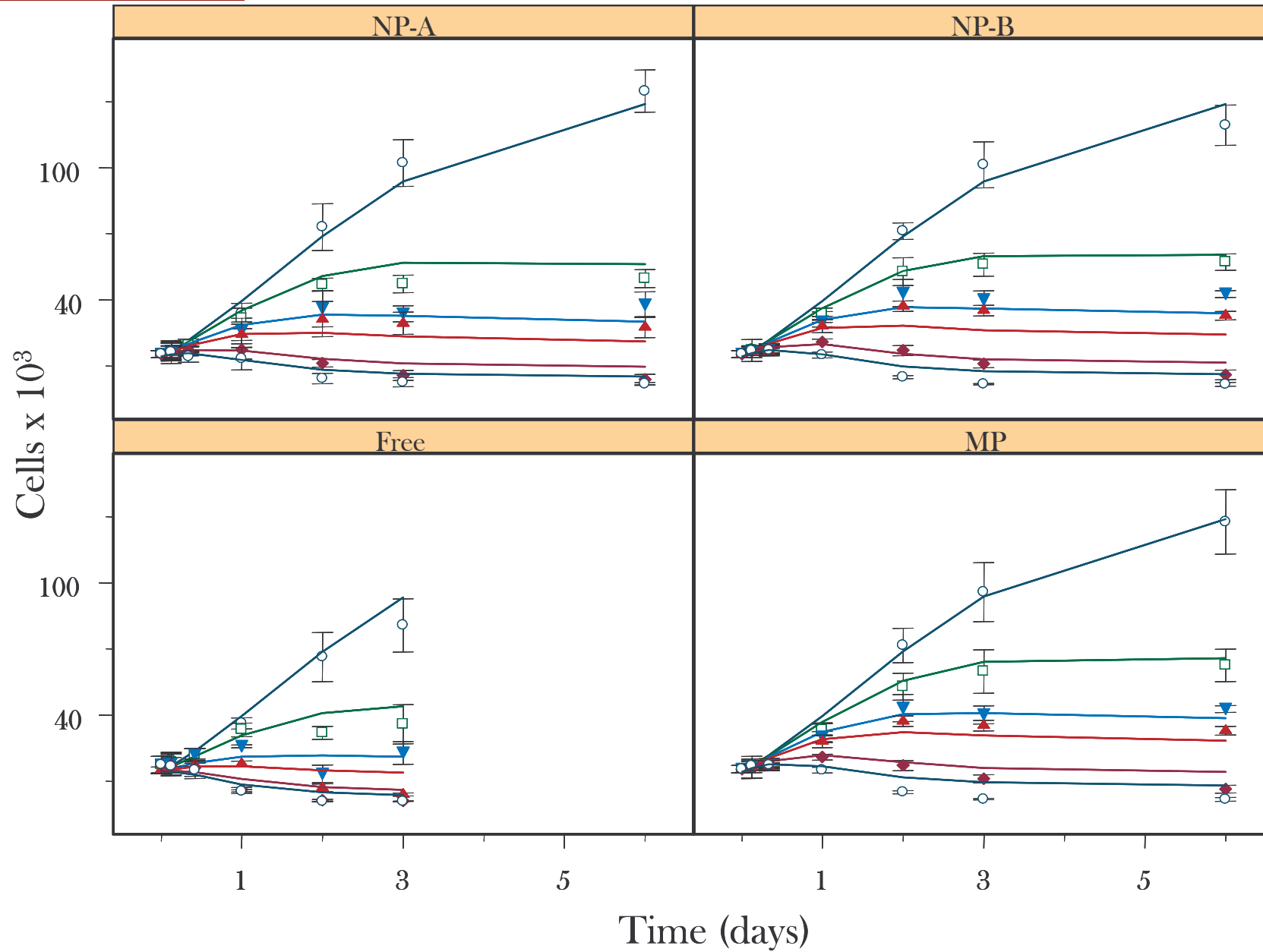
## Descripción de los perfiles de liberación de cisplatino



# Aplicación de las diferentes formas farmacéuticas

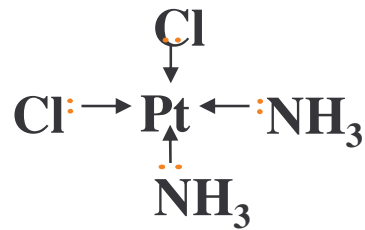


# Descripción del efecto antiproliferativo



# Cisplatino

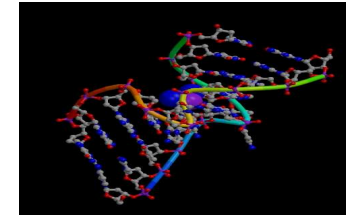
**CISPLATINO  
(CDDP)**



- Agente alquilante → uniones de tipo covalente ADN

## Mecanismo de acción

**ADUCTOS CDDP-ADN**  
INHIBICIÓN PROCESOS TRANSDUCCIÓN Y REPLICACIÓN



**PARO DEL CICLO CELULAR**

(Sistemas Control Celular: CHECKPOINT) →

**ACUMULACIÓN CÉLULAS FASE G2/M**

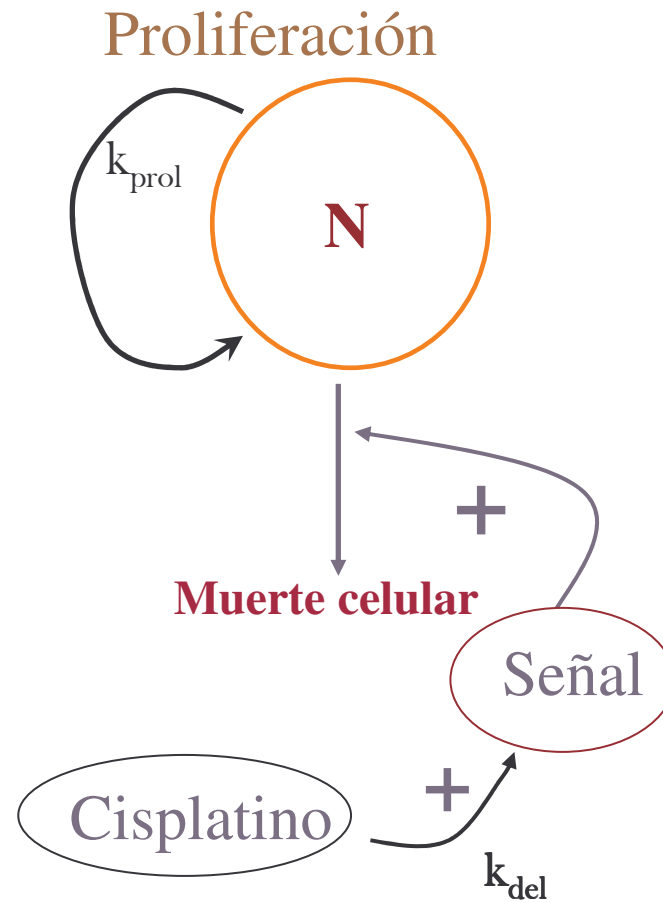
**ACTIVACIÓN CASCADA TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES APOPTÓTICAS**

PROTEASAS FAMILIA CASPASAS → CASPASA-3

**MUERTE CELULAR PROGRAMADA → APOPTOSIS / MUERTE MITÓTICA**  
(FRAGMENTACIÓN DEL ADN)

# Mecanismo de acción “*in vitro*”

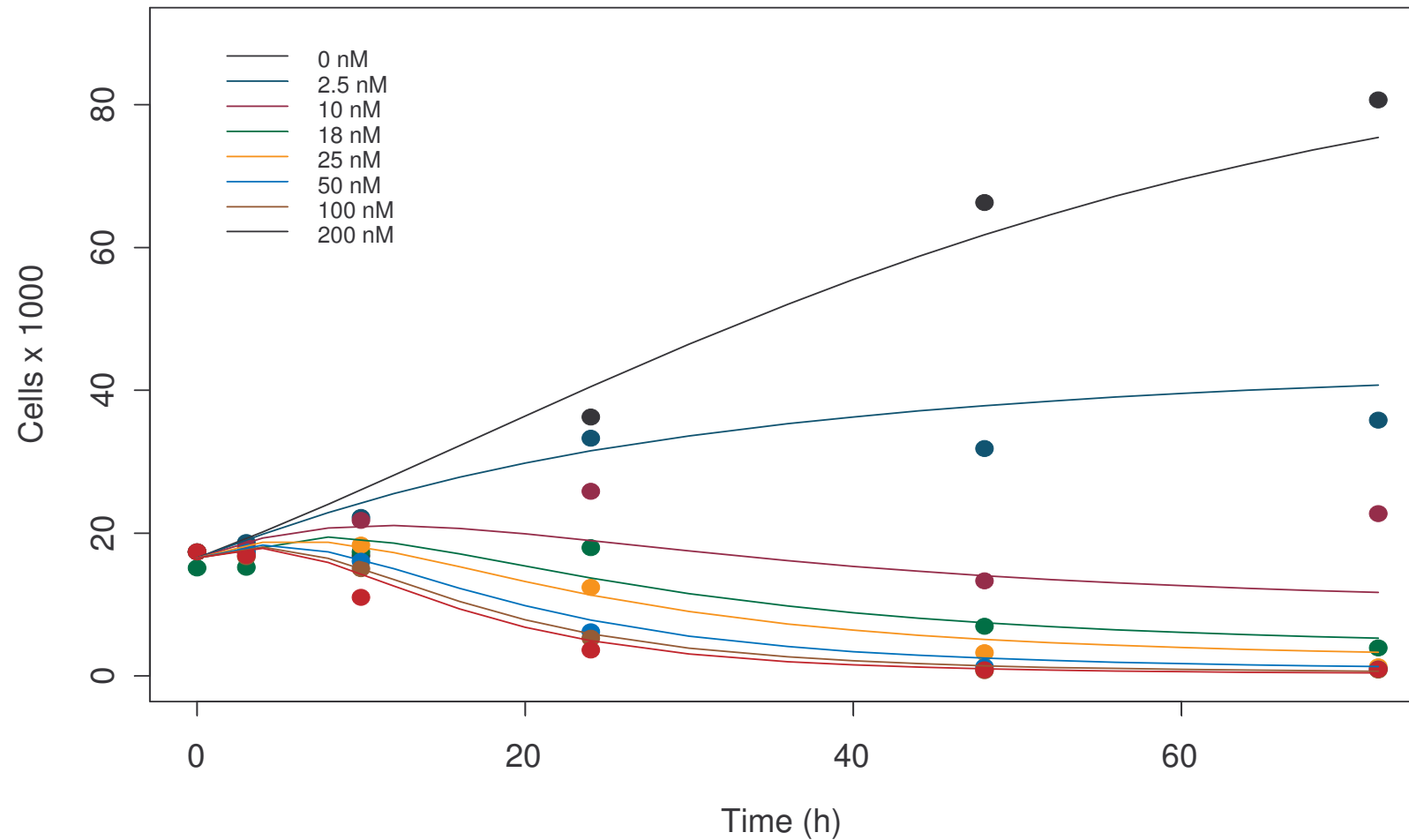
## Modelo de citotoxicidad



# Modelización

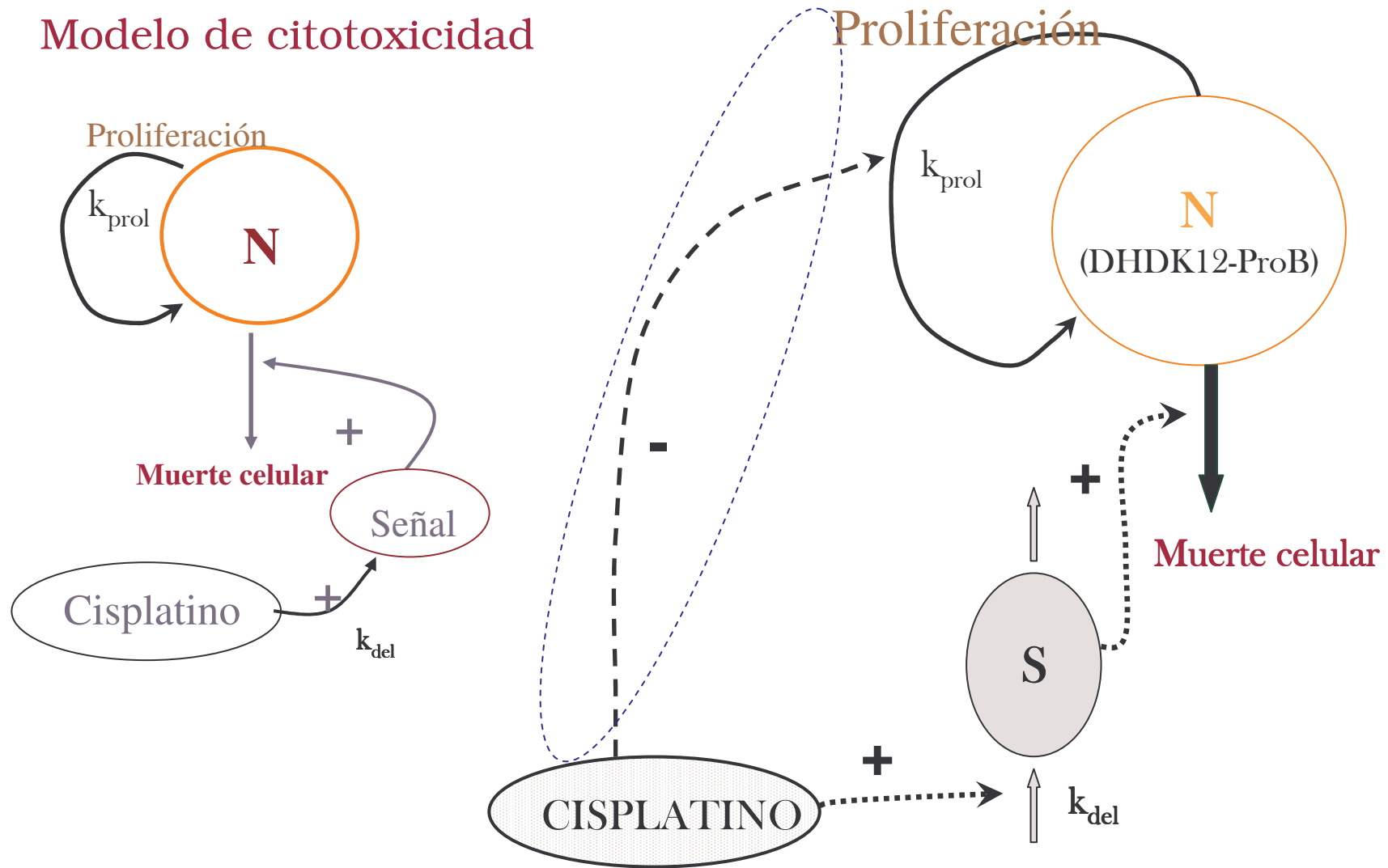
## Cisplatino

## Mecanismo de Acción Citotóxico

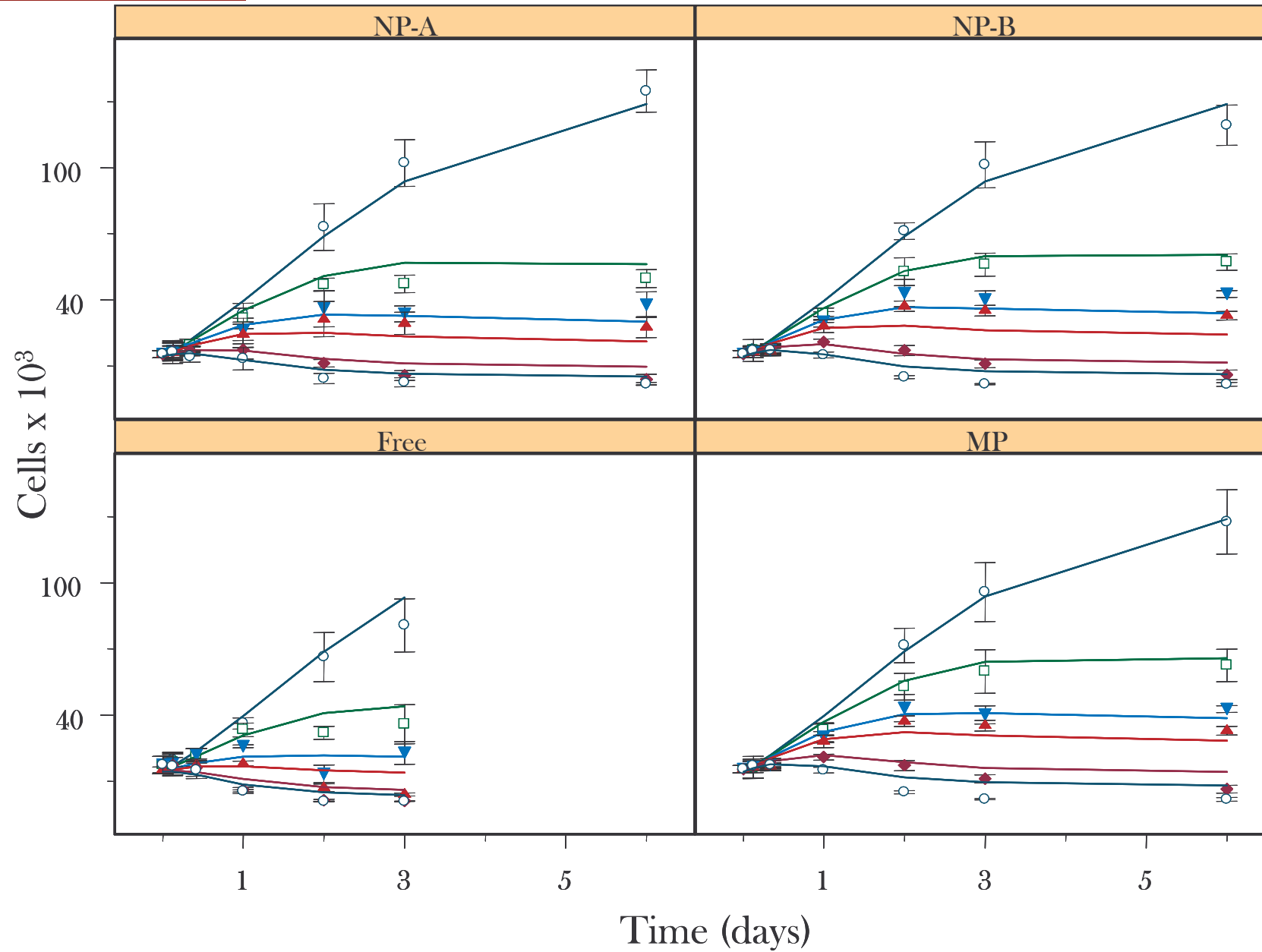


# Mecanismo de acción “in vitro”

## Modelo de citotoxicidad



## Descripción del efecto antiproliferativo

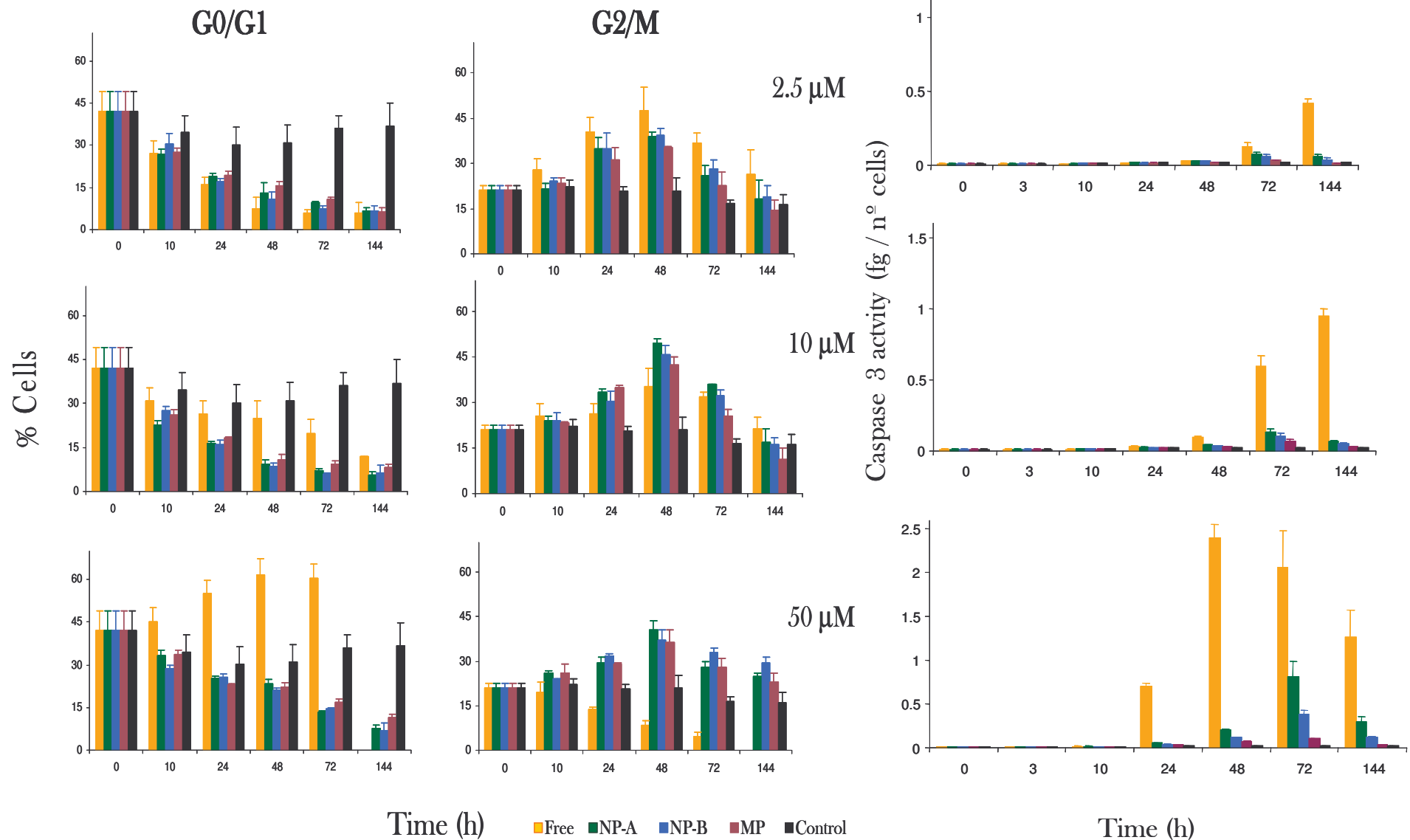




# Mecanismo de acción

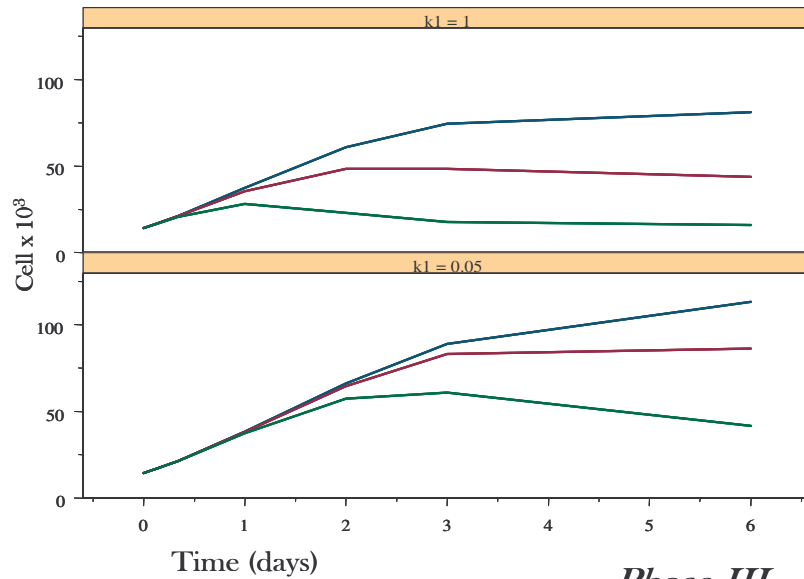
## Ciclo celular

## Activación Caspasa-3

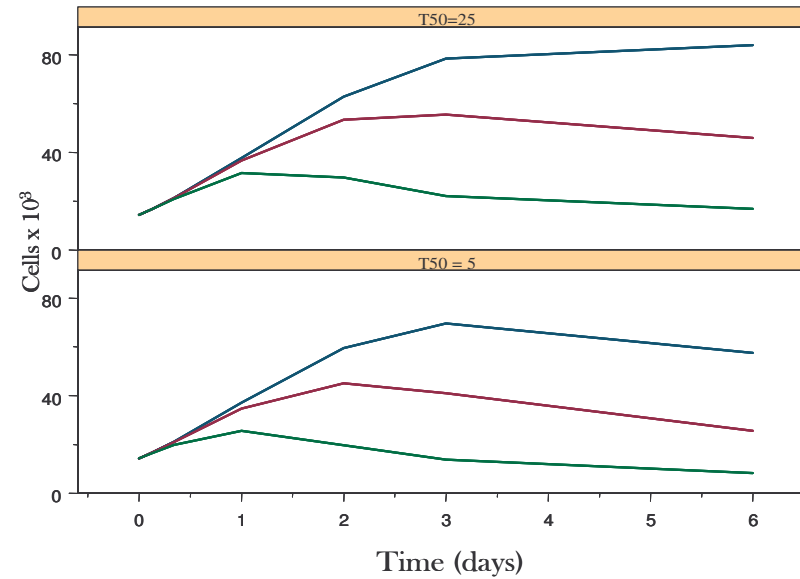


# Aplicación *in silico* para optimizar las formulaciones

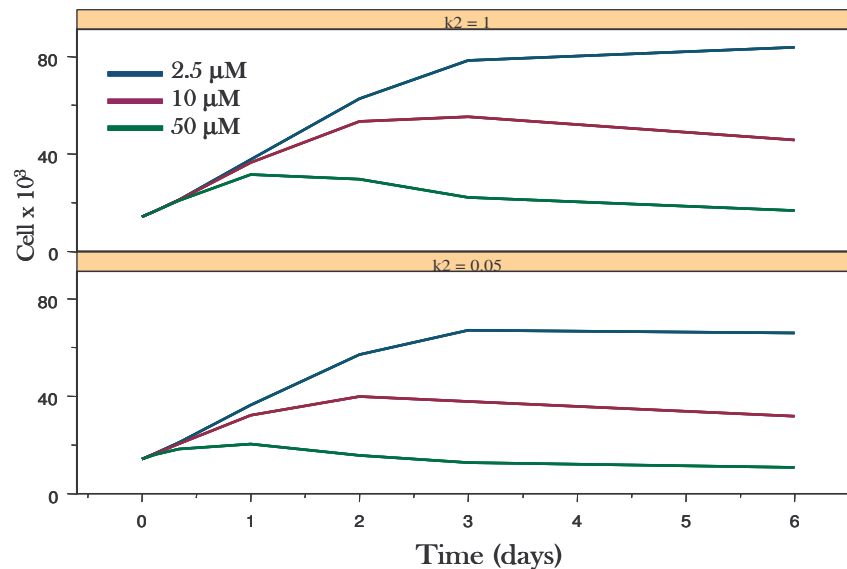
*Phase I*



*Phase II*



*Phase III*



Conditions for simulations:

**Phase I**  
 $A = 0.25; B = 0.75$   
 $T_{50} = 25; k_2 = 0.5$

**Phase II**  
 $A = 0.25; B = 0.75$   
 $k_1 = 0.5; k_2 = 0.5$

**Phase III**  
 $A = 0.25; B = 0.75$   
 $k_1 = 0.5; T_{50} = 25$

$k_1, k_2$  (day<sup>-1</sup>)  
 $T_{50}$  (days)

# Conclusiones

- Mediante esta estrategia fue posible identificar y cuantificar dos mecanismos de acción para el cisplatino:
  - El primero: “inhibición de la proliferación” apoyado por el efecto observado en ciclo celular
  - El segundo muerte celular por activación de la vía apoptótica debida a la caspasa-3.
- El modelo concentración-efecto propuesto tuvo características semi-mecanicista apoyadas por los resultados observados, y resultó una buena herramienta para explorar *in sílico* la optimización de las formulaciones para su posterior uso en sistemas *in vivo*



Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Pharmaceutical Sciences

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ejps](http://www.elsevier.com/locate/ejps)



Biopharmaceutic and pharmacodynamic modeling of the in vitro antiproliferative effect of new controlled delivery systems of cisplatin

Daniel Moreno<sup>a</sup>, Sara Zalba<sup>a</sup>, Helena Colom<sup>b</sup>, Iñaki F. Trocóniz<sup>a</sup>, Conchita Tros de Ilarduya<sup>a</sup>, María J. Garrido<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, School of Pharmacy, University of Navarra, Irunlarrea, 1, 31008-Pamplona, Spain

<sup>b</sup> Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, School of Pharmacy, University of Barcelona, Spain

# NANOPARTÍCULAS CISPLATINO

FARMACOCINÉTICA

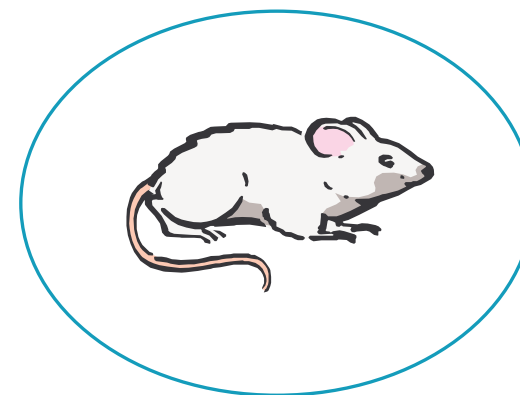


FARMACODINAMIA

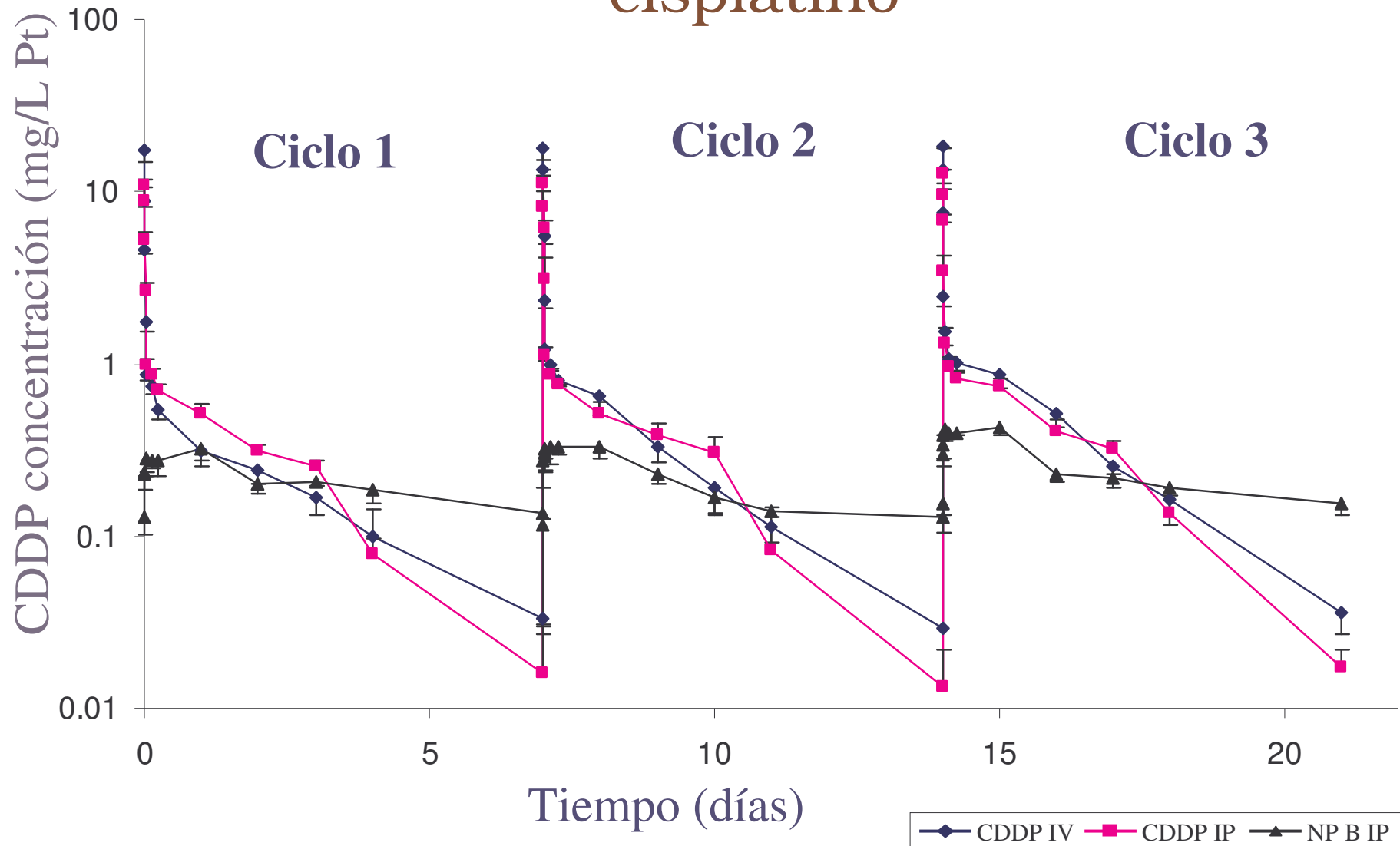


EFICACIA

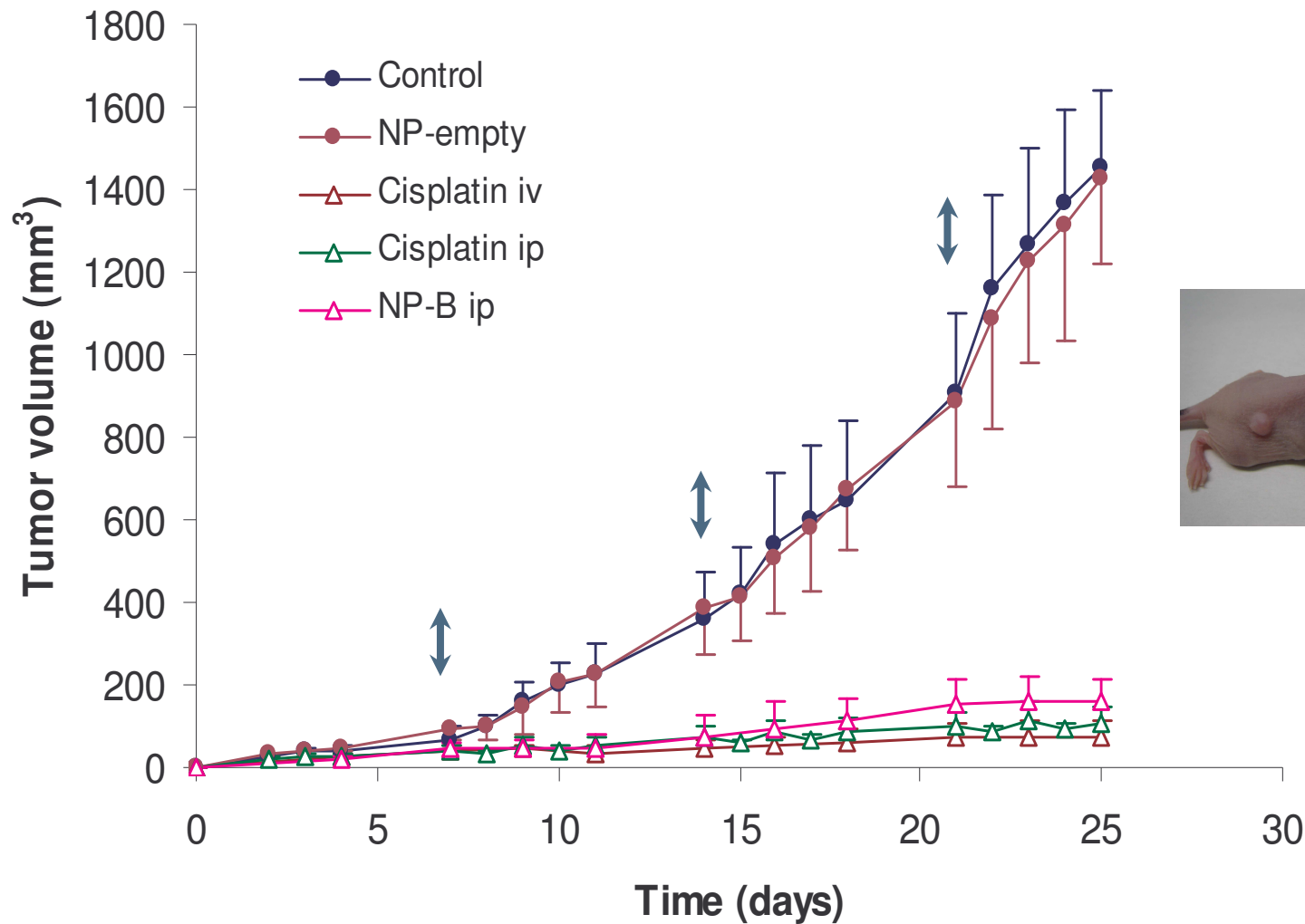
TOXICIDAD



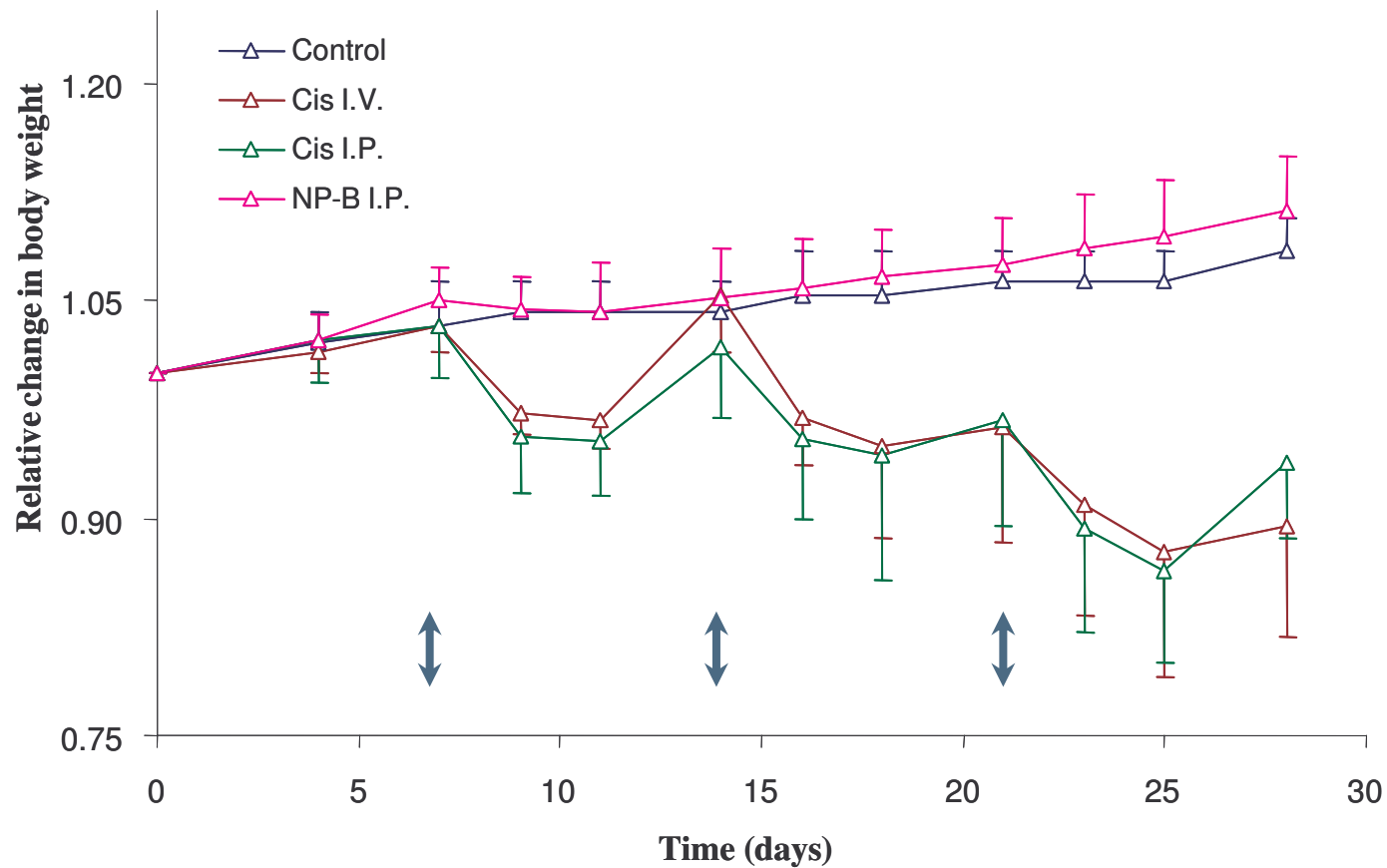
# Perfiles temporales de las concentraciones plasmáticas de cisplatino



# Evolución temporal del efecto antitumoral: cisplatino libre vs. encapsulado



# Evolución temporal del efecto tóxico: cisplatino libre vs. encapsulado



# Biodistribución del cisplatino y actividad apoptótica inducida en tumor

	<i>Drug levels</i> ( $\mu\text{g}$ cisplatin /g tissue)					<i>Caspase-3</i> (pg/ g tissue)
	Lung	Liver	Kidneys	Spleen	Tumor	Tumor
<b>Control</b>	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	21.2 $\pm$ 12.3 <sup>a</sup>
<b>Cisplatin</b>	0.4 $\pm$ 0.2	3.6 $\pm$ 1.3	5.1 $\pm$ 1.4	2.3 $\pm$ 1.4	1.1 $\pm$ 0.6	46.1 $\pm$ 26.0 <sup>b</sup>
<b>Cisplatin-NP</b>	0.4 $\pm$ 0.1	2.1 $\pm$ 0.9	5.9 $\pm$ 1.9	6.5 $\pm$ 1.8*	0.12 $\pm$ 0.06*	98.8 $\pm$ 23.8* <sup>a,b</sup>

NP: presentaron similar eficacia y menor toxicidad





Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ejpb](http://www.elsevier.com/locate/ejpb)



Research paper

## Pharmacodynamics of cisplatin-loaded PLGA nanoparticles administered to tumor-bearing mice

Daniel Moreno <sup>a</sup>, Sara Zalba <sup>a</sup>, Iñigo Navarro <sup>b</sup>, Conchita Tros de Ilarduya <sup>a</sup>, María J. Garrido <sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, University of Navarra, Pamplona, Spain

<sup>b</sup> Department of Chemistry and Soil Science, University of Navarra, Pamplona, Spain