



POLIMERSOMAS SENSIBLES A ESTÍMULOS COMO VEHÍCULOS PARA EL TRANSPORTE SELECTIVO DE FÁRMACOS

MARINA NÚÑEZ PÉREZ

FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA



FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA



TRABAJO DE FIN DE GRADO

GRADO EN FARMACIA

POLIMERSOMAS SENSIBLES A ESTÍMULOS COMO VEHÍCULOS PARA EL TRANSPORTE SELECTIVO DE FÁRMACOS

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

ALUMNA: MARINA NÚÑEZ PÉREZ

TUTORA: CARMEN FERRERO RODRÍGUEZ

DEPARTAMENTO: FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

LUGAR Y FECHA DE PRESENTACIÓN: SEVILLA, JULIO DE 2022

RESUMEN

El creciente uso de los nanotransportadores como vehículos de administración de fármacos se explica porque mejoran el comportamiento farmacocinético y farmacodinámico de los principios activos, optimizándose la eficacia terapéutica y disminuyéndose la aparición de efectos adversos. De entre todos ellos, los polimersomas destacan por su alta estabilidad y capacidad de encapsulación tanto de moléculas hidrófilas como hidrófobas. Sin embargo, la liberación de los fármacos se ve dificultada por la baja permeabilidad de la membrana. Por este motivo, en los últimos años se ha prestado especial atención a los polimersomas sensibles a estímulos.

En esta revisión bibliográfica se estudiarán, por tanto, los diferentes tipos de estímulos a los que pueden ser sensibles los polimersomas y la utilidad de estos sistemas como plataformas para el transporte selectivo de fármacos. Para ello, en primer lugar, es indispensable analizar los diferentes polímeros con los que se elaboran los polimersomas y, de entre ellos, distinguir cuál es el responsable de responder al estímulo establecido. En segundo lugar, se estudiarán los métodos de elaboración y las características (tamaño, potencial zeta y eficiencia de encapsulación de fármacos) de estos nanotransportadores. En tercer lugar, se detallarán los ensayos *in vitro* realizados que permiten confirmar la capacidad de respuesta de los polimersomas a los diferentes estímulos y, por ende, examinar la tasa de liberación de los fármacos encapsulados a lo largo del tiempo. Por último, también se describirán los ensayos *in vivo* (en modelos animales) a los que son sometidos para examinar su comportamiento de biodistribución en el organismo, demostrándose su acumulación en el lugar deseado, así como la eficacia terapéutica de los fármacos transportados, con la posterior evaluación de la aparición o no de efectos adversos.

Palabras clave: nanotecnología, polimersomas, estímulos, cáncer.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. OBJETIVOS.....	7
3. METODOLOGÍA	8
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
4.1. Polimersomas sensibles a estímulos.....	10
4.1.1. Polimersomas sensibles a estímulos endógenos.....	11
a) Polimersomas sensibles al pH	11
b) Polimersomas sensibles a la temperatura	14
c) Polimersomas sensibles a potenciales de oxidación y reducción	20
c.1) Polimersomas sensibles a la reducción.....	20
c.2) Polimersomas sensibles a la oxidación	22
d) Polimersomas sensibles a enzimas	24
4.1.2. Polimersomas sensibles a estímulos exógenos	25
a) Polimersomas sensibles a ultrasonidos	25
b) Polimersomas sensibles a estímulos magnéticos	27
c) Polimersomas sensibles a la luz	29
4.2. Aplicaciones de los polimersomas sensibles a estímulos	30
5. CONCLUSIONES	33
6. BIBLIOGRAFÍA	34
7. GLOSARIO	39

1. INTRODUCCIÓN

La administración de fármacos, tal y como su nombre indica, es el proceso en el que se administra un principio activo para conseguir un efecto terapéutico en humanos o animales, siendo clave su liberación en el lugar, tiempo y concentración adecuados (Figura 1). Sin embargo, esto puede verse comprometido por la baja solubilidad, degradación, rápida velocidad de aclaramiento, incapacidad para atravesar las barreras biológicas o toxicidad de los fármacos (Ward and Georgiou, 2011). Por ejemplo, la administración de fármacos potentes como terapia del cáncer conduce a toxicidad sistémica, efectos clínicos no deseables, baja biodisponibilidad y resistencia farmacológica, debido a la inespecificidad de estas moléculas por las células tumorales. Por ello, se prefiere el uso de sistemas de administración de fármacos que permitan la liberación específica del agente antitumoral en las células cancerosas y no en el torrente circulatorio y/o tejidos sanos (Benito et al., 2020).

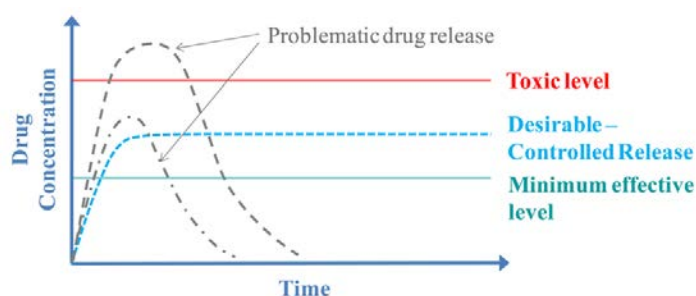


Figura 1. Concentración plasmática de fármaco a la largo del tiempo (Ward and Georgiou, 2011).

El desarrollo de la ciencia de los materiales ha propiciado el auge del uso de la nanotecnología en el ámbito de la farmacia y la terapéutica para el transporte de fármacos en las últimas décadas. Como consecuencia, se han introducido sistemas de administración de fármacos a escala nanométrica como son los liposomas, las micelas, las nanopartículas y los polimersomas, en cuya estructura encontramos fosfolípidos y polímeros de alto peso molecular (Guo et al., 2021).

Las características que hacen de un transportador de fármacos el más idóneo para su administración en el organismo son las siguientes (Onaca et al., 2009):

- Gran capacidad para encapsular fármacos.
- Estabilidad adecuada en el torrente circulatorio.
- Mayor vida media en el organismo.

- Acumulación selectiva del sistema en la diana terapéutica.
- Perfil de liberación de fármacos adecuado a las necesidades requeridas.
- Biocompatibilidad.

En base a lo anterior, en los últimos años se ha prestado especial atención a los polimersomas, sistemas vesiculares de tamaño nanométrico que se forman de manera espontánea en un medio acuoso a partir de copolímeros anfifílicos (Karandish et al., 2018a). Típicamente, los polimersomas se organizan en una bicapa polimérica hidrofóbica que delimita un núcleo acuoso en su interior. Esta característica estructural les proporciona la capacidad de vehicular tanto fármacos hidrófilos (encapsulados en el interior del núcleo) como lipófilos (transportados en la membrana hidrofóbica) (Figura 2) (Saravanakumar et al., 2020). El que se formen polimersomas y no otro tipo de nanoestructuras como micelas esféricas y lamelas dependerá del método de autoensamblaje utilizado para su formación y de otras condiciones tales como la concentración de polímero, el tipo de disolvente orgánico y la proporción v/v entre el disolvente y el agua (Japir et al., 2020).

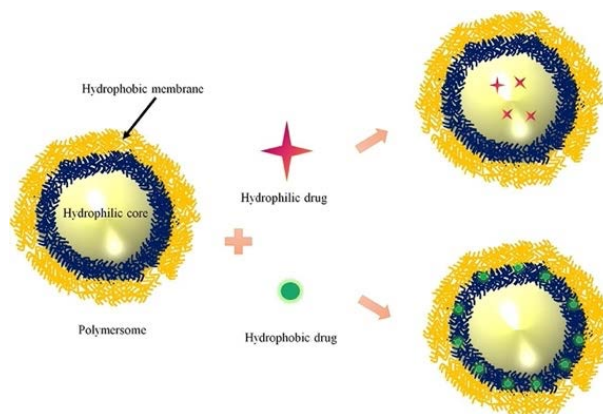


Figura 2. Representación esquemática de la estructura de un polimersoma y su capacidad de carga de fármacos hidrófilos e hidrófobos (Singh et al., 2022).

Los polimersomas se caracterizan además por la versatilidad que presentan para modular sus propiedades (tamaño y morfología), ya sea cambiando la ratio entre los bloques hidrófilo/hidrofóbico del copolímero, funcionalizando su superficie externa o induciendo respuestas a estímulos en su membrana (Lomora et al., 2015) (Figura 3). Además, debido a su pequeño tamaño, estos sistemas han demostrado ser capaces de superar las barreras biológicas por el efecto de permeación y retención mejorada (EPR), aumentándose así la eficacia de los fármacos administrados (Zhou et al., 2021). Todo ello les dota de un gran potencial para su uso

en la administración de fármacos y en la terapia génica (de Souza et al., 2022). También pueden actuar como nanorreactores modulares, permitiendo la síntesis de moléculas complejas en un solo paso mediante la encapsulación de enzimas en su interior, que quedan aisladas del medio externo, evitándose así su degradación catalítica y su desnaturalización (Kim and Kim, 2020).

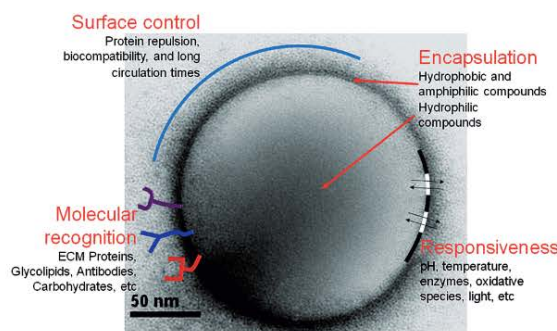


Figura 3. Diferentes propiedades que pueden ser incluidas en el diseño molecular de polímerosomas (LoPresti et al., 2009).

En comparación con los liposomas, vesículas formadas por fosfolípidos que se autoensamblan para formar una bicapa lipídica (Cho et al., 2010), y pese a su semejanza morfológica, la membrana de los polímerosomas es más resistente y fuerte debido al mayor peso molecular de los polímeros que los conforman en comparación con los fosfolípidos de la membrana de los liposomas, lo que les hace inherentemente más estables (Laskar et al., 2017b). Sin embargo, la mayor longitud y libertad conformacional de estos polímeros hacen que la membrana de los polímerosomas sea menos permeable al agua, dificultándose la liberación específica de los fármacos en el lugar de acción deseado (Chécot et al., 2003; Saravanakumar et al., 2020). No obstante, estas propiedades de la membrana pueden modificarse mediante la reticulación selectiva de las cadenas hidrocarbonadas del copolímero (Chécot et al., 2003), la selección de aquellos polímeros que formen membranas porosas de manera intrínseca, la modificación química y/o la inserción de canales de proteínas en la membrana (Lomora et al., 2015).

Otra de las razones por las que los polímerosomas tienen una gran repercusión clínica es porque solventan algunas de las limitaciones que poseen los liposomas, como son la corta vida media en la circulación sanguínea (debido a su baja estabilidad), el escaso control de las pérdidas de fármaco a través de la membrana (Gibson et al., 2020) y la inmunogenicidad (Che and Yuan, 2017). El hecho de que los polímerosomas posean mayor vida media en el organismo y que sean

biocompatibles se explica, además de por la estabilidad de la membrana como anteriormente se ha mencionado, por el uso de polietilenglicol (PEG) como polímero hidrofílico (Karandish et al., 2018a), así como por la fijación de ligandos como anticuerpos, péptidos y proteínas en la superficie, obteniéndose sistemas de vehiculización más sofisticados (Moreno et al., 2021).

La razón por la que el PEG aumenta la vida media de estos polimersomas en la circulación sanguínea se debe a que disminuye la interacción del sistema con las proteínas del plasma. La incorporación de dextrano o ácido poliacrílico también desempeña la misma función (Joglekar and Trewyn, 2013).

Por otra parte, la fijación de ligandos o funcionalización de la membrana de los polimersomas permite, además, la liberación selectiva del fármaco en células y tejidos específicos, solventándose así una de las limitaciones de estos nanosistemas. Para ello, se hace reaccionar químicamente los grupos reactivos de los ligandos con los de la superficie del polímero (Moreno et al., 2021).

Otra posibilidad para favorecer la vehiculización del sistema a la región deseada y mejorar la liberación selectiva de los fármacos es con el diseño de polimersomas sensibles a diferentes estímulos (Lomora et al., 2015). Esto es posible porque los polímeros que conforman estos polimersomas son sensibles a estímulos, cambiando bruscamente sus propiedades fisicoquímicas en respuesta a los mismos. Existen diferentes tipos de estímulos (Wei et al., 2020):

- Estímulos exógenos, como la temperatura, la luz, los ultrasonidos y los campos eléctricos y magnéticos.
- Estímulos endógenos, como pH, enzimas y potenciales de oxidación/reducción.

Este tipo de polimersomas ha encontrado gran aplicación en la terapia del cáncer, ya que los tejidos y células tumorales presentan un microambiente fisicoquímico diferente al de las células y tejidos sanos. Por ejemplo, las células tumorales se caracterizan por un ambiente reductor (hipóxico) y ácido, por la gran cantidad de ácido láctico vía glucólisis e hidrólisis del ATP formados por el rápido metabolismo de las células. En definitiva, se puede estimular la liberación del fármaco encapsulado a partir de los polimersomas sensibles a estos estímulos (Karandish et al., 2018a; Khan et al., 2020; Singh et al., 2022).

2. OBJETIVOS

El hecho de que se puedan modular las propiedades de los polimersomas induciendo una respuesta estimulante en sus membranas y que con ello se mejore el transporte activo de los fármacos encapsulados en su interior, evitándose así los problemas de toxicidad sistémica y efectos clínicos indeseados, hace que el objetivo general de este trabajo bibliográfico sea revisar la utilidad de los polimersomas sensibles a estímulos como plataformas para el transporte selectivo de fármacos.

Este objetivo principal se concreta en una serie de objetivos específicos tales como:

- Conocer los polímeros utilizados para la formulación de este tipo de polimersomas, así como los estímulos a los que son sensibles.
- Estudiar los métodos de elaboración y las características principales de estos sistemas.
- Analizar el comportamiento de liberación *in vitro* e *in vivo* de dichos sistemas.
- Profundizar en las diferentes aplicaciones de estas plataformas.

3. METODOLOGÍA

Este trabajo de fin de grado, al ser de carácter bibliográfico, se ha llevado a cabo mediante la revisión de la literatura de interés incluida en diferentes bases de datos, concretamente Scopus y PubMed. El portal web de la Biblioteca de la Universidad de Sevilla (<https://fama.us.es>) ha permitido acceder al contenido publicado en estas fuentes.

Para acotar y facilitar la búsqueda se hizo uso de las siguientes palabras clave: *polymersomes*, *stimuli-sensitive* y *stimuli-responsive*, y de los operadores booleanos *AND* y *OR*, que nos muestran los resultados que contienen todos los términos especificados (*AND*) o bien los resultados que contienen al menos uno de los dos términos (*OR*). Por tanto, la estrategia de búsqueda final se resume en: *stimuli-sensitive OR stimuli-responsive AND polymersomes* (Figura 4).

- En primer lugar, se trabajó con la base de datos Scopus, encuadrando la investigación con la estrategia de búsqueda tanto en el título, resumen como en las palabras clave de los artículos publicados en la misma. Para concretar aún más la búsqueda, se seleccionaron aquellos publicados en inglés y en el intervalo 2002-2022. Como resultado, Scopus proporciona 109 documentos, siendo excluidos 4 de ellos por ser capítulos de libro.
- En segundo lugar, se hizo una búsqueda avanzada en PubMed, encuadrando la investigación seleccionando “*All Fields*” y agregando la estrategia de búsqueda previamente mencionada. Además, se incluyeron como filtros de búsqueda aquellos artículos publicados en inglés y en el intervalo 2002-2022. Como resultado, PubMed proporciona 64 documentos diferentes, de los cuales se descartaron 58, ya que coinciden con los encontrados en la base de datos Scopus, para evitar el reanálisis.

Por tanto, y con objeto de sistematizar, los criterios de inclusión aplicados en esta revisión bibliográfica han sido artículos científicos publicados en inglés, por ser la lengua vehicular de la Ciencia, así como aquellos publicados en los últimos 20 años debido a la actualidad del tema. Forman parte de los criterios de exclusión los capítulos de libro y aquellos artículos científicos a los que no se pudo acceder a su lectura completa, descarga gratuita ni aportaban información relevante en su *abstract* para los objetivos propuestos en esta revisión bibliográfica.

Por último, se empleó como gestor de referencias bibliográficas la aplicación web Mendeley.

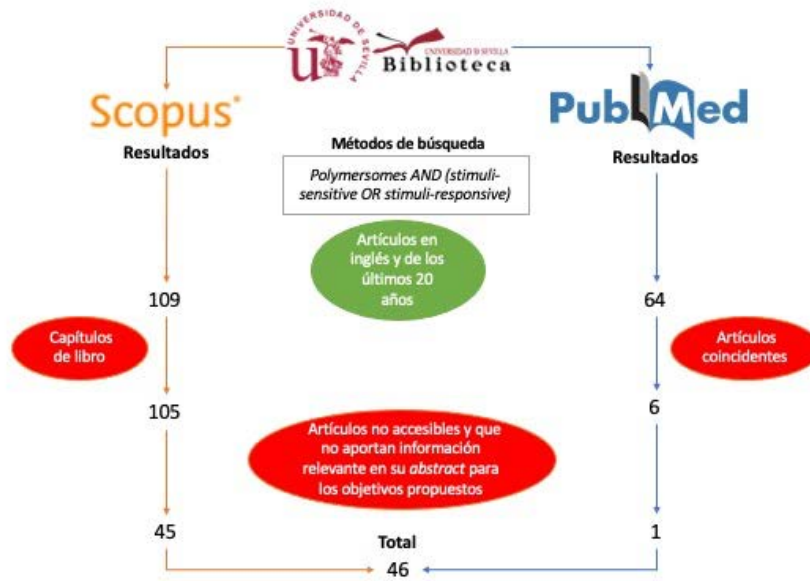


Figura 4. Diagrama de flujo en el que se incluyen los criterios de inclusión y exclusión para esta revisión bibliográfica.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Polimersomas sensibles a estímulos

Los polimersomas sensibles a estímulos son sistemas muy sofisticados e inteligentes que responden de forma muy variada ante la presencia de los mismos. Estas respuestas pueden concluir con la transición hidrofílica/hidrofóbica y/o rotura de enlaces del polímero o bien la disolución/precipitación/degradación de la plataforma y, finalmente, con la liberación del fármaco transportado en su interior (Meng et al., 2009). Además, la rapidez con la que se produzcan estas respuestas determinará la tasa de liberación de la molécula encapsulada (Joglekar and Trewyn, 2013).

Estos nanosistemas inteligentes presentan las siguientes características (Harwansh et al., 2019):

- Biocompatibilidad, biodegradabilidad y estabilidad de la plataforma en los sistemas biológicos.
- Liberación sostenida del fármaco, lo que se traduce en una respuesta terapéutica prolongada.
- Mejora de la biodisponibilidad del fármaco encapsulado.
- Disminución de los efectos adversos, ya que se impide que el fármaco ejerza su acción farmacológica y/o toxicológica antes de llegar al lugar de acción.
- Disminución de la respuesta inmunológica, ya que se evita que el fármaco se degrade de manera prematura.
- Minimización de la resistencia farmacológica en bacterias y células fagocíticas, debido a la baja permeabilidad de estos sistemas.

Son destacables las ventajas que ofrecen los estímulos externos frente a los internos en la activación de estos polimersomas, ya que ofrecen un mayor control espacio-temporal, mayor biocompatibilidad y facilidad de aplicación (Joglekar and Trewyn, 2013). Además, los estímulos endógenos son parámetros fisiológicos que están sujetos a variabilidad interindividual y local en el organismo (Beauté et al., 2019). Sin embargo, el diseño de polimersomas sensibles a estímulos exógenos es menos frecuente que aquellos que ofrecen sensibilidad a estímulos internos, debido al incremento de los costes, la dificultad para escalar la tecnología y la complejidad de los aspectos regulatorios de ese tipo de sistemas (Joglekar and Trewyn, 2013).

4.1.1. Polimersomas sensibles a estímulos endógenos

a) Polimersomas sensibles al pH

Debido al diferente rango de pH encontrado en el organismo de manera fisiológica, este tipo de polimersomas son los que cobran mayor importancia en el ámbito científico, ya que les convierte en unos de los más biocompatibles (Singh et al., 2022), de mayor fácil ajuste y detección (Zhou et al., 2021). Por ejemplo, a lo largo del tracto gastro-intestinal, el pH varía de más ácido en el estómago (pH 2) a más básico en el intestino (pH 5-8) (Meng et al., 2009). Además, el pH ejerce un gran papel como factor diferenciador de células sanas sobre otras cuando existen situaciones patológicas como cáncer o tejidos inflamados, lugares donde predomina un ambiente ácido (Onaca et al., 2009). Por tanto, es posible diseñar plataformas con polímeros que respondan a ese pH ácido, liberándose así de manera selectiva el fármaco transportado en su interior.

Para la formación de estos polimersomas se necesitan, por tanto, polímeros sensibles al pH (pK_a 3-11). En general, se pueden distinguir dos tipos de polímeros, los poliácidos y los polibásicos. Los poliácidos son aquellos que poseen en su estructura grupos ácidos débiles, como pueden ser los ácidos carboxílicos y sulfónicos, mientras que los polibásicos son aquellos que poseen grupos básicos débiles, como pueden ser los grupos amino primarios, secundarios o terciarios (Meng et al., 2009). Para el autoensamblaje del polimersoma, se necesita un valor de pH mayor al pK_a correspondiente al copolímero anfifílico, para que así los grupos ionizables presentes en los bloques hidrófilo o hidrófobo del polimersoma no estén ionizados (Joglekar and Trewyn, 2013; Onaca et al., 2009). Además, también se han desarrollado otros polímeros que poseen enlaces sensibles a la rotura ante la presencia del estímulo, como los enlaces ésteres y acetales (Meng et al., 2009).

En definitiva, cuando los polimersomas se encuentran un pH ácido en el medio, pueden suceder dos circunstancias (Laskar et al., 2017b; Onaca et al., 2009):

- Los grupos ácidos o básicos de los copolímeros se protonan o se desprotonan, respectivamente, aumentando así la hidrofilia y las repulsiones electrostáticas de la matriz polimérica, lo que conduce a una desestabilización del polimersoma y liberación rápida de las moléculas transportadas. Algunos ejemplos de polímeros que ejercen esta función son (Hu et al., 2017; Iyisan and Lanfester, 2019):

- Poliácidos: poli(ácido acrílico) o PAA.
 - Polibásicos: poli[2-(dietilamino)etil metacrilato] o PDEAEMA, poli[2-(diisopropilamino)etil metacrilato] o PDPAEMA y el poli[2-(dimetilamino)etil metacrilato] o PDMAEMA.
- Los enlaces sensibles a pH se rompen, lo que conduce a la destrucción del vehículo y la liberación sostenida de las moléculas transportadas. Dentro de este grupo se encuentran polímeros como (Hu et al., 2017):
- Poliésteres alifáticos: ácido poliláctico (PLA) y poli(ϵ -caprolactona) (PCL).
 - Polímeros con enlaces sensibles a ácidos como las hidrazonas, iminas, ortoésteres y acetales. Por ejemplo, el copolímero dibloque de PEG y poli(2,4,6-trimetoxibenzilidenopentaeritritol carbonato) (PTMBPEC), donde el enlace sensible a la hidrólisis es el acetal benzolideno.

Albuquerque et al. (2021), mediante la técnica de microfluidos, elaboraron polimersomas basados en un copolímero de bloque constituido por un polímero hidrófilo-hidrófobo sensible al pH como es el poli(2-(diisopropilamino)etil metacrilato) o PDPAEMA (pK_a 6'8) y el polímero hidrófilo poli[N-(2-hidroxipropil)metacrilamida] o PHPMA (PHPMA₃₅-*b*-PDPAEMA₇₅). Los polimersomas con un 10% p/p de doxorubicina (DOX) presentaron un tamaño de 95 nm y una carga superficial de -3'9 mV. Para confirmar su sensibilidad al pH, se evaluó el perfil de liberación *in vitro* de DOX a diferentes pHs (7'4, 6'5 y 5'5) mediante el método de diálisis. Se observó que el fármaco se libera mucho más rápido a pH 5'5, debido al desensamblaje de la plataforma por la protonación del bloque PDPAEMA (Figura 5).

Los ensayos *in vivo* se llevaron a cabo en modelos animales portadores de linfomas, estudiándose en ellos la biodistribución de la plataforma mediante fluorescencia. Para ello, se conjugó el colorante fluorescente DBCO-Cianina7 (Cy7) al polimersoma. Los resultados mostraron una larga permanencia en el organismo y una intensidad de fluorescencia menor en el tejido cardíaco, lo que sugiere una disminución de los efectos cardiotóxicos asociados a DOX. En contraposición, la intensidad de fluorescencia fue mayor en la zona del tumor, observándose una clara reducción del volumen del tumor en comparación con aquellos ratones tratados con DOX libre.

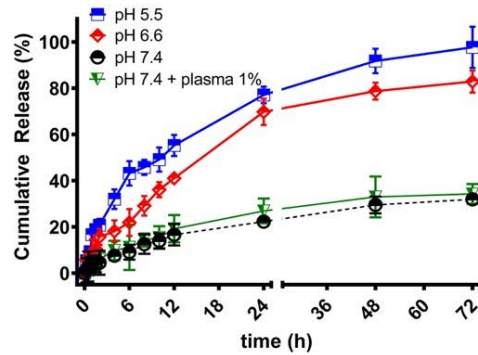


Figura 5. Perfil de liberación de DOX encapsulada en el polymersoma a diferentes pHs en función del tiempo (Albuquerque et al., 2021).

Jeong et al. (2013) sintetizaron un copolímero de injerto a base de poli(β -amino éster) como cadena principal y metoxipolietilenglicol y poli(D,L-láctico) como cadenas laterales (PAE-*g*-PLA/mPEG). Los polymersomas (tamaño 100 nm) se prepararon vía rehidratación pelicular usando clorhidrato de doxorrubicina (DOX·HCl) como fármaco, con una eficacia de encapsulación del 19'2%. Su sensibilidad al pH se debe a la presencia de un grupo amino terciario en PAE, ionizable fácilmente a pH ácido. Los estudios de liberación *in vitro* se llevaron a cabo por el método de diálisis y revelaron la rapidez de liberación del fármaco en entornos ácidos: a pH 5'5 se liberó aproximadamente el 90% de DOX·HCl encapsulado frente al 60% liberado a pH 7'4 (Figura 6).

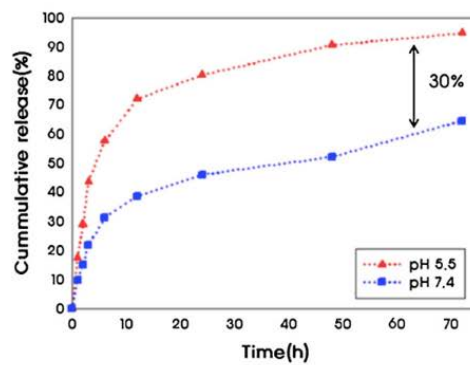


Figura 6. Perfil de liberación *in vitro* de DOX a partir de los polymersomas a diferentes pHs (Jeong et al., 2013).

Laskar et al. (2017a) también diseñaron polymersomas sensibles al pH usando como polímeros PDMAEMA y mPEG en diferentes ratios molares (PDMAEMA_x-*co*-mPEG_y). Estos polymersomas se formaron espontáneamente sin necesidad de utilizar ningún disolvente orgánico ni estímulo externo. Además, presentaron un tamaño de 200 nm y una carga superficial

positiva que aumenta cuanto mayor es el número de unidades de PDMAEMA incluidas. Los autores encapsularon calceína (Cal) en el núcleo hidrófilo del polimersoma como colorante fluorescente para estudiar su perfil de liberación a diferentes pHs mediante fluorescencia, tal y como se muestra en la Figura 7. Se observó que la intensidad de fluorescencia de Cal encapsulada en los polimersomas disminuía radicalmente a pH 4, debido a la liberación muy rápida de la molécula por el incremento de la repulsión electrostática entre los grupos cargados del copolímero.

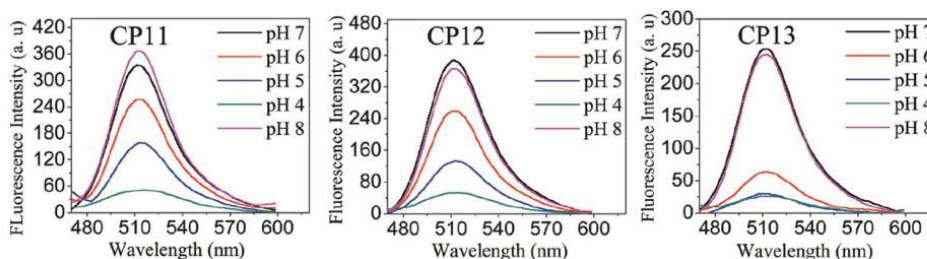


Figura 7. Espectros de fluorescencia de Cal en las diferentes soluciones poliméricas obtenidos tras 1h de incubación a diferentes pHs (Laskar et al., 2017a).

b) Polimersomas sensibles a la temperatura

Los polimersomas sensibles a la temperatura son empleados en situaciones patológicas donde existe una temperatura elevada en el cuerpo, como puede ser un estadio febril o el microambiente de una célula tumoral (40-42°C, debido a la rápida proliferación celular), para la liberación del fármaco. Sin embargo, también se han publicado estudios donde la temperatura se aplica de manera exógena (Joglekar and Trewyn, 2013; Liu et al., 2015).

Los bloques poliméricos utilizados para la formación de estas plataformas poseen una característica conocida como temperatura crítica de solución (CST). La CST es la temperatura a la que los polímeros experimentan una transición de fase, lo que provoca cambios en la solubilidad, conformación y en el equilibrio hidrofílico/hidrofóbico de la matriz polimérica (Joglekar and Trewyn, 2013).

En base a lo anterior, se pueden distinguir dos tipos de polímeros (Onaca et al., 2009):

- Aquellos que, al calentarse, se vuelven insolubles, ya que poseen una temperatura crítica de solución baja (LCST). El polímero LCST más ampliamente utilizado es poli(N-isopropilacrilamida) o PNIPAM, ya que su LCST (32°C) se encuentra por debajo de la

temperatura fisiológica corporal, lo que le hace un gran candidato para la liberación de fármacos (Pramanik and Ghosh, 2015). Dentro de este grupo también se encuentra el polímero poli(*N*-vinilcaprolactama) o PVCL, usado por su capacidad de complejación, biocompatibilidad y estabilidad frente a la hidrólisis (Liu et al., 2015; Onaca et al., 2009).

- Aquellos que, al calentarse, se vuelven solubles, ya que poseen una temperatura crítica de solución alta (UCST). Uno de los polímeros UCST usados en la literatura es el poli(alquil fosfato de etileno) (Iyisan and Landfester, 2019).

Para conseguir que este tipo de vehículos se acumule en la célula tumoral es necesario ajustar la LCST del polímero con objeto de que se encuentre a una temperatura intermedia entre la corporal y la tumoral, que suele ser ligeramente más alta. Esto se puede abordar a través de la estereoquímica, el balance hidrófilo-hidrófobo y/o la composición de los monómeros o también con la adición de sal (Onaca et al., 2009). Es decir, la LCST de un polímero depende del peso molecular y la estructura del mismo. Por ejemplo, los polímeros de PEG-metacrilato (PEGMA) varían su LCST en función de las unidades de óxido de etileno que compongan su cadena lateral (Ward and Georgiou, 2011).

Liu et al. (2015) elaboraron polimersomas sensibles a la temperatura basados en un copolímero tribloque de poli(*N*-vinilcaprolactama)-poli(dimetilsiloxano)-poli(*N*-vinilcaprolactama) (PVCL_n-PDMS₆₅-PVCL_n) mediante la técnica de nanoprecipitación. Estos nanotransportadores presentaron un tamaño diferente en función del copolímero empleado para su elaboración (530 nm para PVCL₁₀-PDMS₆₅-PVCL₁₀; 220 nm para PVCL₁₅-PDMS₆₅-PVCL₁₅), pudiendo encapsular un 40% p/p de DOX.

Los estudios de liberación *in vitro* se llevaron a cabo por el método de diálisis a pH 7.4 y en un rango de temperatura de 25-45°C. Los resultados obtenidos demostraron que la cantidad de DOX liberada dependía de las unidades de PVCL incluidas en el polimersoma: a menor número de unidades, existe menos entrecruzamiento entre las cadenas de PVCL, por lo que el volumen libre disponible para el colapso del polimersoma cuando la temperatura supera la LCST (36-50°C) es mayor, provocando defectos en la capa hidrófoba de PDMS. La liberación del fármaco hidrófilo a través de la capa hidrófoba de PDMS se explica, por tanto, por la generación de poros en la membrana a temperaturas elevadas. Tal y como se puede ver en la Figura 8, se obtiene una liberación del 86% cuando se ensaya PVCL₁₀-PDMS₆₅-PVCL₁₀ frente al 29% liberado con 15 unidades de PCVL (Liu et al., 2015).

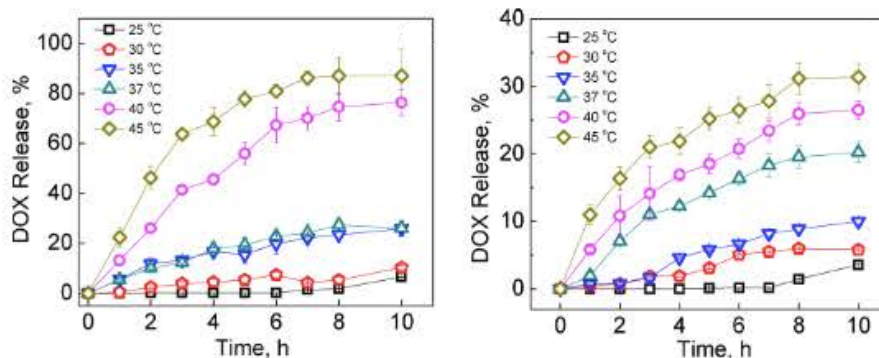


Figura 8. Perfiles de liberación de DOX dependientes del tiempo desde PVCL₁₀-DMS₆₅-PVCL₁₀ (izquierda) y PVCL₁₅-DMS₆₅-PVCL₁₅ (derecha) (Liu et al., 2015).

Algunas de las limitaciones encontradas a la hora de abordar la síntesis y el diseño de polimersomas termosensibles son (Hamidi et al., 2012):

- No existen suficientes copolímeros que sean sensibles a la temperatura y que puedan formar polimersomas.
- El copolímero más ampliamente utilizado, PNIPAM, ha demostrado propiedades no biodegradables y tóxicas en el organismo.

Debido a esto, se suelen diseñar polimersomas sensibles a otro tipo de estímulo acompañando a la temperatura, generalmente el pH. Esta estrategia la adoptaron Zhou et al. (2021) en el diseño de polimersomas formados por autoensamblaje de un polímero tribloque de metoxilo poli(etilenglicol)-*b*-poli(*N*-isopropilacrilamida)-*b*-poli[2-(dietilamino)etil metacrilato-co-2-hidroxi-4-(metacriloxi)benzofenona] o mPEG-*b*-PNIPAM-*b*-P(DEAEMA-co-BMA). Los polimersomas se prepararon por el método de disolución directa, sin necesidad de usar solventes orgánicos. Las vesículas obtenidas presentaron un tamaño de 168 nm y están constituidos por una membrana con diferentes capas: capas hidrofílicas de mPEG interna y externa, dos capas de PNIPAM sensibles a la temperatura y una capa hidrófoba sensible a pH de P(DEAEMA-co-BMA). Como fármacos encapsularon DOX·HCl (hidrófilo) y paclitaxel (PTX) (hidrófobo), con eficacias de encapsulación respectivas de 59'9% y 70'2%, para que una vez liberados en el ambiente tumoral ejerzan un efecto terapéutico sinérgico.

Los perfiles de liberación *in vitro* de los fármacos a partir de los polimersomas diseñados se muestran en la Figura 9, pudiéndose observar lo siguiente (Zhou et al., 2021):

- A pH 7.4 y a cualquier temperatura, la liberación de ambos fármacos no supera el 10%, porque la capa hidrófoba bloquea la difusión de los fármacos.
- A pH 6.0, los fármacos empiezan a liberarse, ya que la capa de P(DEAEMA-co-BMA) hincha por conversión de PDAEMA en un polímero hidrófilo. A este pH, la LCST del polímero es de 41°C, por lo que la corona de mPEG-b-PNIPAM se hinchará por debajo de esa temperatura, permitiendo la liberación de los fármacos.
- A pH 6.0 y a 45°C, solamente se liberará PTX y no DOX, debido a su diferente localización en el sistema. PDAEMA se volverá hidrófilo en esas condiciones, permitiendo la liberación de PTX; sin embargo, PNIPAM colapsa a esa temperatura, bloqueando la liberación de DOX del núcleo hidrófilo.

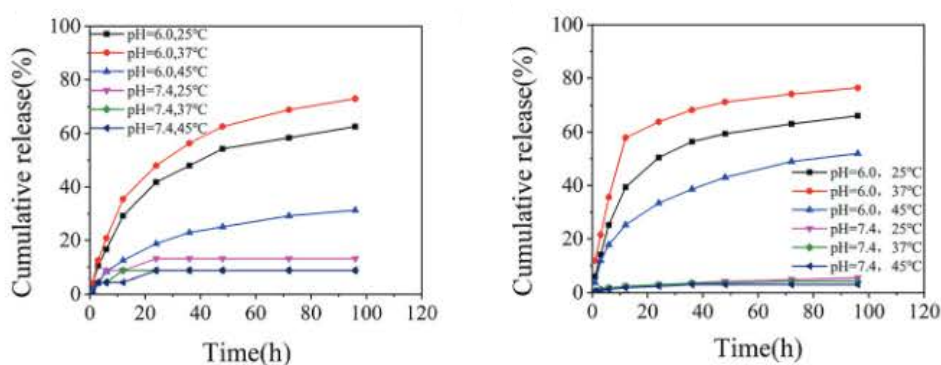


Figura 9. Representación de la cantidad de DOX (izquierda) y PTX (derecha) liberados a lo largo del tiempo en función del pH y la temperatura (Zhou et al., 2021).

También se realizaron estudios de captación celular en líneas celulares con ayuda de cumarina 6, un indicador de fluorescencia que reemplaza a PTX, adsorbido en la capa hidrofóbica del vehículo. Las células se incubaron, por un lado, con DOX y cumarina 6 libres y, por otro lado, incluidos en los polimersomas. La fluorescencia apareció más rápidamente en el primer grupo, debido a que los compuestos libres penetran en la célula vía difusión pasiva, mientras que, si están conjugados con los polimersomas, penetran por endocitosis. Por otro lado, los estudios de citotoxicidad demostraron que DOX y PTX libres presentaron mayor citotoxicidad celular, pero no discriminada, por su rápida internalización. Sin embargo, los polimersomas permitieron la acumulación de los fármacos en la región tumoral (Figura 10).

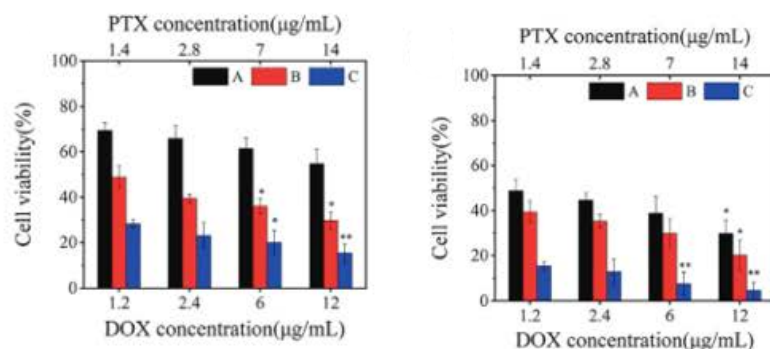


Figura 10. Citotoxicidad de DOX-PTX incluidos en polimersomas (izquierda) y DOX-PTX libres (derecha) a diferentes concentraciones e intervalos de tiempo (A=24h, B=48h y C=96h) (Zhou et al., 2021).

De Souza et al. (2022) también elaboraron polimersomas sensibles a ambos estímulos por el método de intercambio de solvente usando el copolímero de bloque poli[2-(dimetilamino)etil metacrilato]-poliestireno (PDMAEMA_n-b-PS_n). La sensibilidad al pH y a la temperatura la proporciona el segmento PDMAEMA (polímero LCST con pK_a 8'3). El tamaño y el potencial zeta de los polimersomas están influenciados por el pH: cuanto mayor es el pH, los grupos amino de PDMAEMA se desprotonan y disminuye la repulsión electrostática del polímero, por lo que los dos parámetros disminuyen; cuanto menor es el pH, por tanto, mayor será el tamaño y la carga superficial positiva. Por ejemplo, para PDMAEMA₃₁₅-b-PS₂₄₄, el tamaño varía de 96 a 86 nm al pasar de un pH 5 a un pH 8, mientras que el potencial zeta varía de 44'2 a 25 mV en el mismo intervalo de pH. La sensibilidad a la temperatura se estudió con la variación del tamaño del polimersoma al incrementar la temperatura de 25 a 85°C, siendo inexistente en presencia de pH ácido y aumentando a pH 8. Para calcular la capacidad de encapsulación de esta plataforma, se empleó yoduro de trimetilamonio-2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-yoduro de oxilo (CAT1) como molécula modelo hidrofílica, obteniéndose como resultado un total de 0'59%. La principal aplicación que pueden tener estos polimersomas es en el transporte de genes, ya que la protonación de los grupos amino del segmento PDMAEMA permite acomplejar moléculas con carga negativa, como el ADN.

Por otra parte, se pueden generar cambios de temperatura de manera local mediante la inclusión de nanovarillas de oro (AuNR) en la plataforma que absorben la luz NIR, permitiendo así la desintegración del polimersoma junto con el pH ácido del entorno. Esta estrategia fue empleada por DiazDuarte-Rodriguez et al. (2019) para elaborar, por nanoprecipitación, polimersomas transportadores de DOX basados en el copolímero de bloque PEG-b-PDEAEMA,

donde PDEAEMA es el responsable de responder a los estímulos (pK_a 7.4 y LCST 37-38°C). De entre los copolímeros sintetizados, destaca, por su capacidad de encapsulación, P₅₁D₄₇@AuNR-761, que dio lugar a polimersomas con un tamaño de 131 nm y una eficacia de encapsulación de AuNR y de DOX de 44.7 y 47.4%, respectivamente. El estudio de la sensibilidad al pH y a la temperatura se llevó a cabo observando los cambios de tamaño adoptados por el polimersoma:

- A pH < 7 se observó un aumento del diámetro del polimersoma debido a la repulsión electrostática producida por la protonación de los grupos aminos correspondientes al bloque PDEAEMA. Como consecuencia se libera DOX. Esta sensibilidad al pH también afecta a la carga superficial del nanotransportador, que aumenta en valor positivo cuanto menor es el pH.
- A medida que aumentaba la temperatura generada por la absorción de luz, se observó una disminución del diámetro del polimersoma. Al superar la LCST del polímero, se produce una contracción del polimersoma, que expulsa la DOX encapsulada. Por tanto, la temperatura y el fármaco tienen un efecto sinérgico en la terapia tumoral.
- El efecto combinado de pH ácido y NIR aumenta la liberación de DOX a partir del polimersoma. En la Figura 11 se puede observar un aumento de la liberación del sistema irradiado a partir de la 5ª hora, por protonación de los grupos amino a pH 5.8 y desestabilización del polimersoma debido a la radiación.

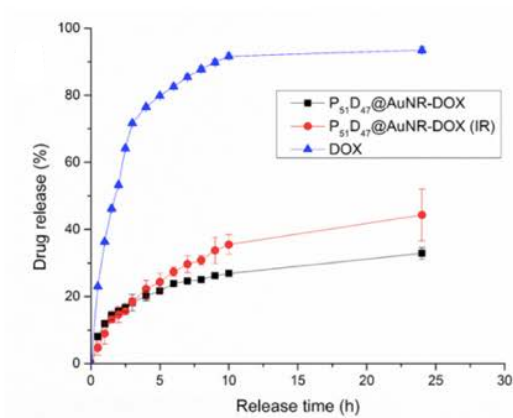


Figura 11. Perfiles de liberación de DOX a pH 5.8 con efecto o no de NIR (DíazDuarte-Rodríguez et al., 2019).

c) Polimersomas sensibles a potenciales de oxidación y reducción

c.1) Polimersomas sensibles a la reducción

Al igual que ocurre con el pH, en las células tumorales también existe un potencial redox totalmente diferente al encontrado en las células sanas. Se ha comprobado que la célula tumoral es un medio hipóxico donde los niveles de glutatión (GSH), un tripéptido que contiene cisteína en su estructura y, por tanto, un agente reductor, son 4 veces más elevados que en las células sanas (Benito et al., 2020; Laskar et al., 2017b).

Generalmente, los polímeros sensibles a un potencial redox alterado son aquellos que poseen enlaces disulfuro (S-S) en su estructura, los cuales son fácilmente escindibles a grupos tioles (SH) en presencia del agente reductor. Se obtienen 2 SH por S-S reducido (Benito et al., 2020). Entre las moléculas reductoras más destacadas se encuentran GSH, NAD⁺ y NADP⁺, que se generan en situaciones patológicas como sepsis, inflamación e hipoxia (Harwansh et al., 2019).

El enlace disulfuro puede diseñarse para que se encuentre entre la unión del bloque hidrófilo-hidrófobo, en el centro del bloque hidrófobo o bien en las cadenas laterales. Por ejemplo, en el copolímero poli(ϵ -caprolactona)-SS-poli(ácido metacrílico) (PCL-SS-PMAA), el enlace se encuentra entre la unión de los dos polímeros, ya que es la posición más favorable para su escisión. En el caso de encontrarse en el centro del bloque hidrófobo, éste necesitaría unas condiciones básicas muy fuertes, así como un largo tiempo de incubación para su rotura, lo cual no es factible en condiciones fisiológicas (Tsai et al., 2020).

Para el tratamiento del adenocarcinoma pancreático ductal, Karandish et al. (2018b) diseñaron polimersomas basados en un polímero sensible a la reducción como es el PEG₁₉₀₀-SS-PLA₆₀₀₀ y un conjugado polimérico de dexametasona-PEG₁₉₀₀-PLA₈₀₀₀, con la idea de dirigir la nanopartícula al núcleo de la célula pancreática tumoral, ya que la dexametasona permite la dilatación de los poros nucleares y, por ende, la entrada del vehículo al interior del mismo. Allí se liberará BBI608 (napabucasina), un inhibidor de la proliferación celular. Para la elaboración de los polimersomas se utilizó el método de intercambio de solvente, obteniéndose vesículas de dimensiones 140-200 nm y una eficacia de encapsulación del 68%. Para el estudio de liberación *in vitro* se emplearon polimersomas que encapsulaban el colorante Cal. Los resultados revelaron que, a una concentración de 10 mM de GSH (similar a la del citosol), se libera el 45% de colorante

encapsulado, mientras que a 50 mM (concentración similar a la del núcleo y, por tanto, el lugar de acción), se libera el 70% encapsulado como resultado de la rotura de la vesícula (Figura 12).

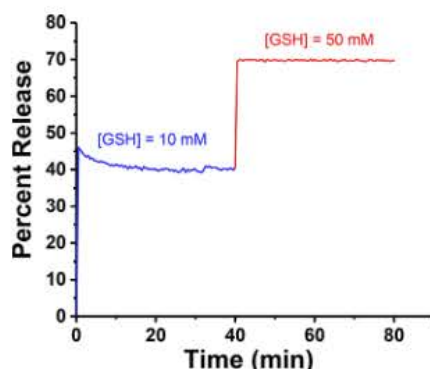


Figura 12. Perfil de liberación de calceína a partir de los polimersomas en función de la concentración de GSH a lo largo del tiempo (Karandish et al., 2018b).

Por otro lado, Khan et al. (2020) sintetizaron distintos tipos de poli[(mPEG-SS-amino) (*N,N*-diisopropiletilendiamino)fosfacenos] (PPDPs), polímeros sensibles tanto al pH como al ambiente hipóxico de la célula tumoral. A partir de estos polímeros elaboraron polimersomas por el método de diálisis, encapsulando DOX (hidrófobo) ó DOX·HCl (hidrófilo) como fármacos antineoplásicos. De entre todos los copolímeros sintetizados, destaca PPDP-1, ya que posee el mejor perfil de liberación de fármacos. Los polimersomas formados con PPDP-1 presentaron un tamaño de 188'2 nm cuando encapsulan DOX·HCl en su interior (con una eficacia del 58'92%) y un tamaño de 287'8 nm si encapsulan DOX (con una eficacia del 78'46%).

Los perfiles de liberación de los fármacos (Figura 13) se estudiaron *in vitro* utilizando diferentes valores de pH (pH 5'6 y 7'4) y diferentes concentraciones del agente reductor ditiotreitól (DTT) (15 y 30 mM). Se evaluó la tasa de liberación de DOX y DOX HCl por desestabilización del polimersoma a pH ácido y por degradación del mismo en presencia de DTT. La velocidad de liberación fue mayor a pH 5'6, debido a la disolución del polimersoma por aumento de la hidrofilia del polímero como consecuencia de la protonación del grupo amino. Además, el DTT potencia la liberación por la escisión del enlace disulfuro del copolímero, obteniéndose un mayor porcentaje de rotura cuanto menor es la hidrofobicidad y mayor el peso molecular del polimersoma.

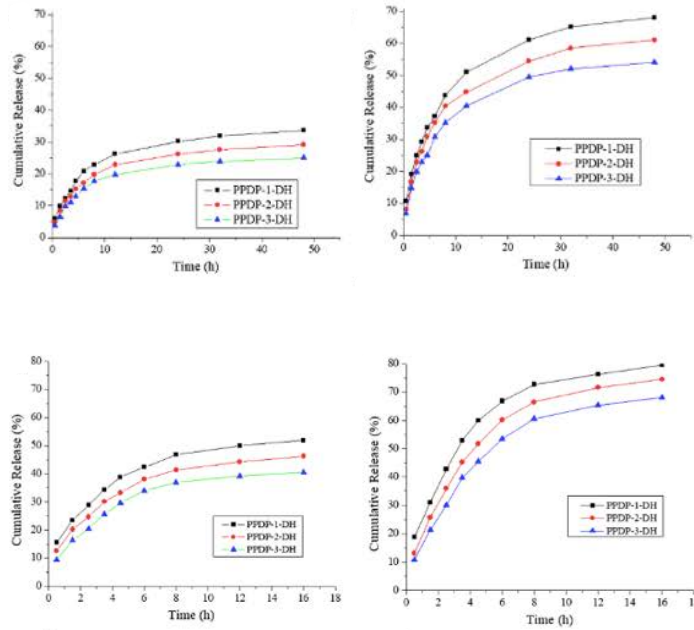


Figura 13. Perfil de liberación de DOX·HCl a diferentes pHs (arriba) y concentraciones de DTT (abajo) (Khan et al., 2020).

c.2) Polimersomas sensibles a la oxidación

También se ha investigado sobre polimersomas sensibles a la oxidación, que actúan en respuesta al estrés oxidativo de la célula tumoral o por la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) asociadas a situaciones patológicas como pueden ser el cáncer, la arteriosclerosis y lesiones cardíacas (Laskar et al., 2017b; Singh et al., 2022). Las ROS más estudiadas en el cáncer y enfermedades inflamatorias son el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el oxígeno singlete (1O_2), el anión superóxido (O_2^-) y el radical hidroxilo (OH^*) (Deng et al., 2019).

Los polímeros sensibles a la oxidación más comunes son aquellos que contienen azufre (polioéteres), selenio/telurio, ariloxalato o ésteres fenilborónicos. Se ha prestado especial atención a aquellos formulados con grupos tioéter, ya que su oxidación da lugar a grupos hidrofílicos sulfóxidos o sulfonas, aumentándose así la solubilidad del polimersoma y su desensamblaje (Deng et al., 2019). Los polímeros más destacados sensibles a este estímulo son el poli(sulfuro de propileno), poli(L-metionina) y poli(L-cisteína) (Dong et al., 2021).

Estas ROS, además de ser generadas en situaciones patológicas, también se pueden formar *in situ* mediante reacciones bioquímicas y fotoquímicas (Deng et al., 2019). Como ejemplos de generación de ROS por reacciones bioquímicas se destacan:

1. La inclusión de glucosa oxidasa (GOx) en el lumen hidrófilo.

La GOx es una enzima encargada de catalizar la glucosa en H_2O_2 en presencia de oxígeno, que puede encapsularse en el polimersoma junto al fármaco correspondiente. Para que se produzca la reacción química, resulta imprescindible que el polimersoma permita la entrada de glucosa y oxígeno molecular (O_2), lo que dependerá de la solubilidad y el coeficiente de difusión de la glucosa a través de la membrana. Se generará H_2O_2 , es decir, un entorno oxidativo que conllevará la degradación del polimersoma por su conversión en un polímero hidrófilo, como previamente se ha comentado (Napoli et al., 2004).

Basado en el mismo concepto, Li et al. (2017) diseñaron polimersomas a partir de PEG copolimerizado con monómeros metacrílicos de camptotecina (CPTMA, profármaco anticancerígeno) y piperidina (PEMA) [PEG₁₁₃-*b*-poli(CPTMA₃₄-*co*-PEMA₂₀)]. Los polimersomas se elaboraron mediante el método de intercambio de solvente, obteniéndose un tamaño de 112 nm y una encapsulación de GOx del 5'66%. Cuando el polimersoma accede al tejido tumoral, el segmento PEMA se protona a pH ácido (pK_a 6'9) y la permeabilidad de la membrana aumenta, produciéndose una reacción oxidativa entre la glucosa que difunde y el oxígeno molecular (O_2), bajo la catálisis de GOx. El H_2O_2 generado mejora el estrés oxidativo en los tumores, activando el profármaco y permitiendo la liberación del fármaco activo por disrupción de la plataforma. En este caso, tanto el estrés oxidativo como la camptotecina (CPT) actúan sinérgicamente para la supresión del crecimiento del tumor. En la Figura 14 se puede observar el perfil de liberación de CPT en presencia de glucosa a pHs 7'4 y 6'8. En 72h, se liberó menos del 10% de fármaco a pH 7'4, debido a la lenta hidrólisis de los enlaces entre CPT y el polímero. Sin embargo, a pH 6'8, se produce una rápida liberación de casi el 80% de fármaco, debido al H_2O_2 generado. Los estudios *in vivo* en modelos animales demostraron una clara eficacia antitumoral del polimersoma al prácticamente erradicar el tumor a los 52 días de la administración sin aparición de efectos adversos.

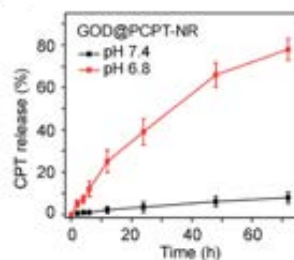


Figura 14. Estudio de liberación *in vitro* de la CPT a partir de un polimersoma sensible al pH y a la oxidación (Li et al., 2017).

Este tipo de polimersomas tienen un gran interés por su aplicación clínica como nanorreactores (Hu et al., 2017).

2. La reacción de Fenton.

Dong et al. (2021) diseñaron un polimersoma a partir del copolímero PEG₄₅-*b*-P(MET/PBC)₂₆, que presenta dos grupos oxidables en su estructura: fenilborónico (éster fenilborónico carbamato, PBC) y tioéter (metionina, MET) coordinado con Cu²⁺. El Cu²⁺ se reducirá a Cu⁺ en la célula tumoral en presencia de GSH, siendo este último el responsable de generar radicales hidroxilo fuertemente oxidativos (OH^{*}) en presencia de H₂O₂. Los polimersomas obtenidos presentaron un tamaño de 415 nm y un potencial zeta de 35.5 mV.

Por otra parte, para la generación *in situ* de ROS mediante reacciones fotoquímicas es necesaria la incorporación de fotosensibilizadores en el polimersoma, por lo que este tipo de plataformas poseen una respuesta dual a la energía lumínica y al ambiente oxidativo (Deng et al., 2019).

d) Polimersomas sensibles a enzimas

En la terapia anticancerígena, también resulta de interés formular polimersomas que sean sensibles a enzimas que se encuentran exclusivamente presentes o sobreexpresadas en la membrana de la célula tumoral. Para ello, se incorpora en el polimersoma una molécula que sea sustrato para la enzima, además del fármaco (Singh et al., 2022).

Por ejemplo, se pueden desarrollar polimersomas que detecten y sean sensibles a las proteasas, marcadores biológicos de algunas condiciones patológicas como inflamación, metástasis, aterosclerosis y trastornos de coagulación de la sangre (Harwansh et al., 2019).

4.1.2. Polimersomas sensibles a estímulos exógenos

a) Polimersomas sensibles a ultrasonidos

La técnica de ultrasonidos es un enfoque no invasivo especialmente útil para la obtención de imágenes de diagnóstico (Singh et al., 2022), así como para la liberación específica del fármaco en el lugar deseado. La ventaja que tiene este tipo de estímulo es que puede aplicarse desde el exterior a cualquier órgano, independientemente de su profundidad (Wei et al., 2020).

En los estudios publicados, generalmente se suele combinar esta técnica con otro tipo de estímulos, principalmente el pH. Por ejemplo, Wei et al. (2020) diseñaron polimersomas formulados con óxido de polietileno-*b*-poli[(2-(dietilamino)etil metacrilato)-*stat*-(metoxietil metacrilato)] [PEO-*b*-P(DEAEMA-*stat*-MEMA)]. Estos polimersomas se elaboraron mediante el método de intercambio de solvente, presentando un tamaño de 465 nm, un potencial zeta de 11'5 mV y una capacidad encapsulación de DOX·HCl del 21'3%. El proceso de liberación del fármaco sigue los siguientes pasos (Figura 15):

- El polimersoma penetra en la célula tumoral por endocitosis, generándose un endosoma inicial caracterizado por un pH ligeramente ácido (6-6'5).
- Los grupos amino terciario de PDEAEMA se protonan y se reduce la concentración de protones del endosoma.
- Como el citoplasma de la célula tumoral se caracteriza por la presencia de un ambiente ácido, se produce la entrada de protones al interior del endosoma final, además de iones cloruro y moléculas de agua para mantener la electroneutralidad.
- Como consecuencia, el endosoma se rompe y se libera el polimersoma en el citoplasma celular, siendo ahora necesaria la aplicación de ultrasonidos para la liberación del fármaco transportado (DOX·HCl).

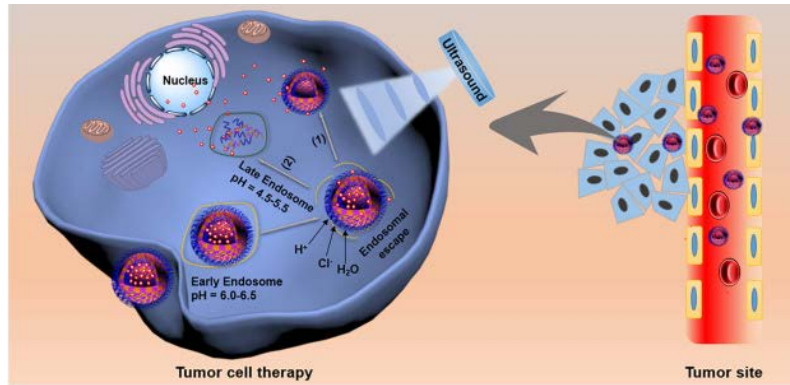


Figura 15. Esquema del proceso de liberación del fármaco transportado en el interior de un polimersoma sensible a pH y ultrasonidos (Wei et al., 2020).

Los estudios de liberación *in vitro* (Figura 16) confirmaron la liberación más rápida del fármaco a pH 6 en comparación con la liberación a pH 7.4, debido a la protonación del segmento PDEAEMA y al aumento de la permeabilidad de la membrana. Además, la liberación a ambos pHs se ve favorecida con la sonicación por la inclusión de PMEMA como polímero que responde a ultrasonidos, mejorándose así la eficacia de la terapia anticancerígena.

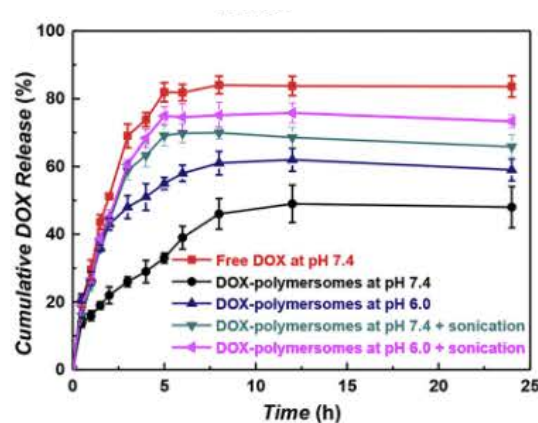


Figura 16. Perfiles de liberación del fármaco a diferentes pH y con la aplicación o no de sonicación (Wei et al., 2020).

Los resultados de los estudios *in vivo* (Figura 17) demostraron una reducción del 95% de la masa tumoral en los ratones tratados con polimersomas portadores de DOX seguido de la aplicación de sonicación, sin aparición de potencial toxicidad. Esto se debe principalmente a la capacidad de acumulación del sistema en el tejido tumoral por la aplicación de ultrasonidos.

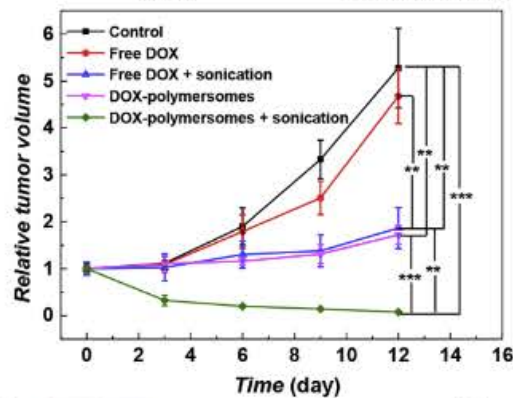


Figura 17. Crecimiento tumoral tras la administración intravenosa de los polimersomas en modelos animales (Wei et al., 2020).

b) Polimersomas sensibles a estímulos magnéticos

En este tipo de polimersomas, la liberación del fármaco se produce por la aplicación de un campo magnético exógeno o ante una hipotermia local, debido a la presencia de nanopartículas magnéticas que acompañan al fármaco transportado. Son especialmente útiles para la liberación de fármacos en la barrera hematoencefálica (BHE) (Singh et al., 2022).

Además, otra de las aplicaciones de este tipo de sistemas es en la terapia del cáncer, ya que no es sólo una estrategia para liberar el fármaco anticanceroso de manera selectiva, sino que también suministra energía térmica directamente al tumor, generándose hipertermia local. En este sentido, Tsai et al. (2020) diseñaron un polimersoma a partir del copolímero PCL-SS-PMAA, que es sensible al pH (PMAA tiene un pK_a de 4'8), al ambiente reductor (debido a la presencia del enlace -SS-) y frente a un campo magnético aplicado de forma exógena (gracias a la incorporación de nanopartículas de Fe_3O_4), lo que permite la acumulación del vehículo en la zona tumoral. Los polimersomas se elaboraron por el método de doble emulsión, obteniéndose un tamaño de 250 nm, un potencial zeta de -21'9 mV y una capacidad de encapsulación de DOX del 65%. Los ensayos *in vitro* por el método de diálisis mostraron una mayor tasa de liberación del fármaco a pH 5'5 (48%) en comparación con la obtenida a pH 7'4 (27%). Además, la aplicación del campo magnético y la presencia de GSH aumentó en 96% la cantidad de fármaco liberada en el medio ácido (Figura 18). Que se libere menor cantidad a pH básico se debe a la desprotonación de los grupos ácidos carboxílicos del segmento PMAA que interaccionan con la sal de DOX, impidiendo su liberación. A su vez, los estudios *in vivo* en ratones reflejaron una

reducción del volumen del tumor de, aproximadamente, el 100%, debido al efecto combinado de DOX y la hipertermia generada (Figura 19).

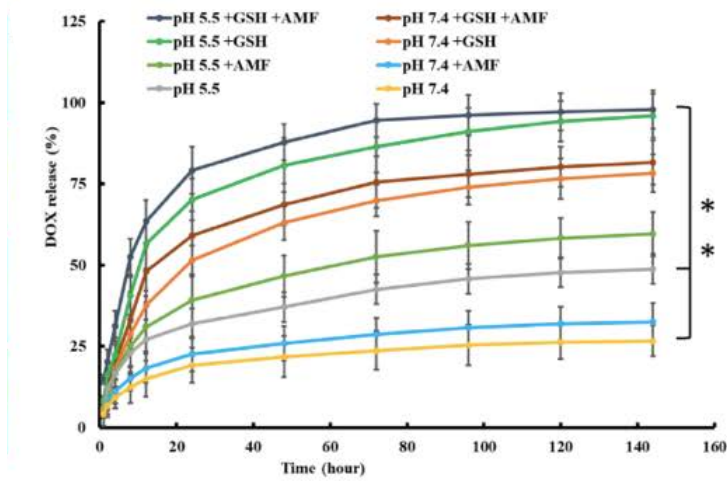


Figura 18. Perfiles de liberación de DOX a diferentes pHs y en presencia o ausencia de GSH (5 mM) y de campo magnético (10 kW durante 15 min) (Tsai et al., 2020).

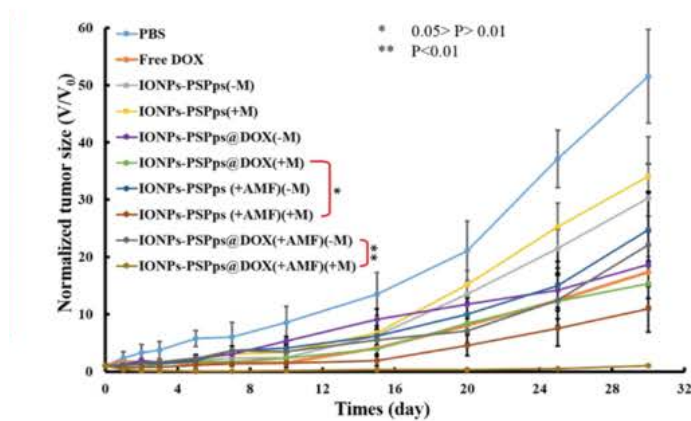


Figura 19. Curvas de crecimiento tumoral en modelos animales tras la aplicación de los diferentes tratamientos (Tsai et al., 2020).

Por otro lado, se ha visto que el uso de nanopartículas metálicas como el oro Au, Ag, Fe₂O₃ y Fe₃O₄ puede ser una estrategia prometedora para la liberación controlada y específica de antibióticos, como la meticilina y el ofloxacino (Moorcroft et al., 2018).

c) Polimersomas sensibles a la luz

Este tipo de polimersomas está recibiendo recientemente gran atención debido a su alta especificidad, baja toxicidad y naturaleza no invasiva del estímulo luminoso (DiazDuarte-Rodriguez et al., 2019). Se pueden usar como estímulos luminosos la luz ultravioleta (UV) o la radiación del infrarrojo cercano (NIR), siendo esta última la más atractiva para las aplicaciones biomédicas debido a que la radiación penetra con mayor profundidad en los tejidos y es menos perjudicial para las células (Cabane et al., 2010).

Para que un polimersoma sea sensible a la energía lumínica es necesario diseñarlo con un enlace fotolábil que permita la liberación del fármaco tras su rotura ante la presencia del estímulo, o bien con una molécula fotoactiva capaz de transformarse en su isómero opuesto cuando incide la luz. Los derivados de *o*-nitrobencilo y del azobenceno son grupos que cumplen con estas características, respectivamente. Algunos de los copolímeros sensibles a la luz utilizados para elaborar polimersomas son poli(óxido de etileno)-poli-(metilfenilsilano), poli(metacrilato)-ácido acrílico con azobenceno, poli(metilcaprolactona)-*o*-nitrobencil-poli(ácido acrílico), poli(ϵ -caprolactona)-*b*-polietilenglicol con un grupo 2-nitrofenilalanina (2NPA) entre los dos bloques (Cabane et al., 2010; Iyisan and Landfester, 2019; LoPresti et al., 2009).

Además, la sensibilidad a la luz de los polimersomas puede venir dada por la inclusión de un fotosensibilizador en su estructura, tal y como propusieron Deng et al. (2019). Los autores elaboraron polimersomas por los métodos de doble emulsión y nanoprecipitación basados en el copolímero poli[*N*-3-(metiltio)propil glicina]-*b*-polisarcosina o PMeSPG-*b*-Psar. Como fotosensibilizador se incluye tetrafenilporfirina (TPP), que genera *in situ* ROS (concretamente $^1\text{O}_2$) bajo la acción de la luz y provoca la ruptura de los polimersomas. Li et al. (2021) también incluyeron un fotosensibilizador, en este caso verde de indocianina (ICG), en polimersomas sensibles al ambiente reductor, junto con dióxido de manganeso (MnO_2), que reacciona con el H_2O_2 endógeno para dar lugar a O_2 , que se convierte en $^1\text{O}_2$ por la irradiación láser, provocando la muerte celular por estrés oxidativo y por hipertermia. Estos polimersomas se elaboraron por el método de rehidratación pelicular y se caracterizaron por poseer un tamaño de 170 nm, un potencial zeta de -8'63 mV y una eficacia de encapsulación de ICG del 75'2%. Los estudios *in vitro* en líneas celulares tumorales mostraron una clara reducción de la supervivencia de las

mismas. Los estudios *in vivo* en modelos animales demostraron la acumulación de la plataforma en el microambiente tumoral.

Por otra parte, el fotosensibilizador también puede incluirse en el polimersoma para la generación de hipertermia local cuando sobre él incide NIR. A esto se le conoce como terapia fototérmica y se utiliza en el tratamiento del cáncer, ya que la generación de calor provoca la acumulación del vehículo en la zona tumoral y aumenta la captación del mismo por las células cancerosas, mejorándose así la eficacia del agente quimioterápico. Zhu et al. (2018) desarrollaron un polimersoma a partir del copolímero tribloque PCL₈₀₀₀-PEG₈₀₀₀-PCL₈₀₀ mediante el método de rehidratación pelicular. Los polimersomas presentaron un tamaño de 208 nm y un potencial zeta de -16'4 mV y encapsularon DOX, ICG y bicarbonato amónico (NH₄HCO₃) como agente generador de burbujas. Este vehículo, en presencia de pH ácido o NIR, se destruye por la descomposición del NH₄HCO₃ en burbujas de CO₂ que generan poros en la membrana, liberándose de forma rápida el fármaco anticanceroso, que actúa de manera sinérgica con la hipertermia local para la destrucción de las células tumorales. Estas conclusiones se obtienen tras realizar los correspondientes estudios *in vitro* (mediante diálisis) e *in vivo* (en modelos animales) (Figura 20).

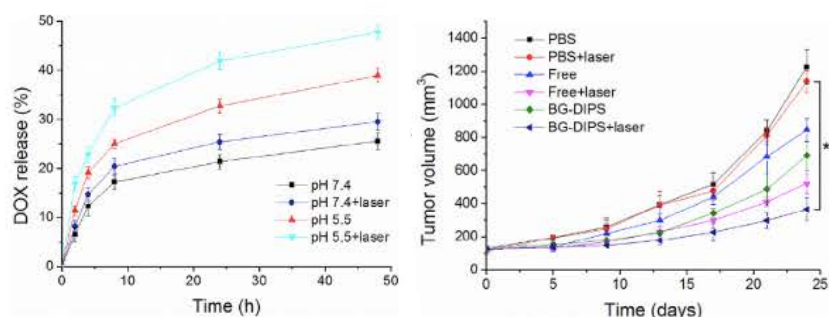


Figura 20. Estudio *in vitro* (izquierda) de liberación de DOX en función del pH y de la irradiación láser y estudio *in vivo* (derecha) de la capacidad de reducción del tumor en modelos animales (Zhu et al., 2018).

4.2. Aplicaciones de los polimersomas sensibles a estímulos

Tal y como se ha visto a lo largo de la revisión, los polimersomas sensibles a estímulos poseen múltiples aplicaciones (Figura 21). Por un lado, pueden utilizarse para fines terapéuticos y médicos, ya que permiten la encapsulación eficiente de fármacos (tanto hidrófilos como hidrófobos), además de material genético (ADN y ARN) y vacunas. Por otro lado, también

pueden emplearse para fines diagnósticos, gracias a la técnica de ultrasonidos (Hu et al., 2017; Singh et al., 2022).

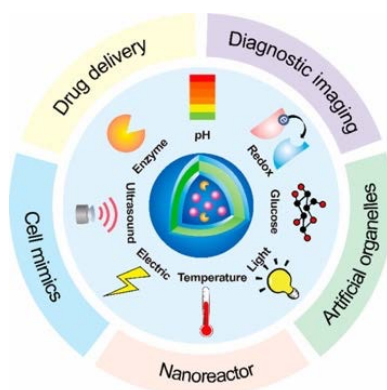


Figura 21. Representación esquemática de las diferentes aplicaciones que pueden tener los polímeros sensibles a los diferentes estímulos (Hu et al., 2017).

Los polímeros también pueden ser empleados como nanorreactores, así como orgánulos y células artificiales, pues sirven como compartimentos donde se llevan a cabo reacciones complejas *in situ* (Hu et al., 2017). En definitiva, estos polímeros surgieron para proteger a las enzimas encapsuladas (como, por ejemplo, la GOx) del medio exterior, preservando y controlando así su actividad, y también para imitar la capacidad de respuesta a los estímulos que poseen las membranas biológicas de las células y orgánulos del organismo, pudiendo servir como implantes celulares (Einfalt et al., 2018; Li et al., 2017).

La estructura compartimental de los polímeros permite además la liberación secuencial de las moléculas transportadas con gran precisión espacio-temporal, aspecto muy prometedor para aplicar estos nanotransportadores en la liberación programada de las mismas. El estudio de Sun et al. (2018) es un ejemplo de esta aplicación. Los autores elaboraron, mediante nanoprecipitación, polímeros a partir de un copolímero anfifílico basado en cumarina y con enlaces disulfuro (PEG-*b*-PCSSMA). Dichos polímeros presentaron un tamaño de 400 nm y fueron capaces de encapsular pequeñas moléculas de DOX·HCl (15% p/p) y grandes de dextrano (5'8% p/p). Este nanosistema presenta una respuesta dual al ambiente reductor y a la energía lumínica, ya que posee enlaces disulfuro así como moléculas de cumarina insertos en el bloque PCSSMA. El proceso de liberación de las moléculas, tal y como muestra la Figura 22, es el siguiente:

- Cuando la luz visible (430 nm) incide sobre el polimersoma, las moléculas de cumarina se escinden y se generan aminas primarias altamente reactivas, lo que conlleva la reticulación de la membrana por amidación y la mejora de su permeabilidad, permitiendo el paso de las pequeñas moléculas de DOX·HCl.
- Cuando el polimersoma se encuentra ante grandes cantidades de GSH, el enlace disulfuro se rompe, perdiéndose la integridad de la plataforma. Como consecuencia, las largas moléculas de dextrano se liberan.

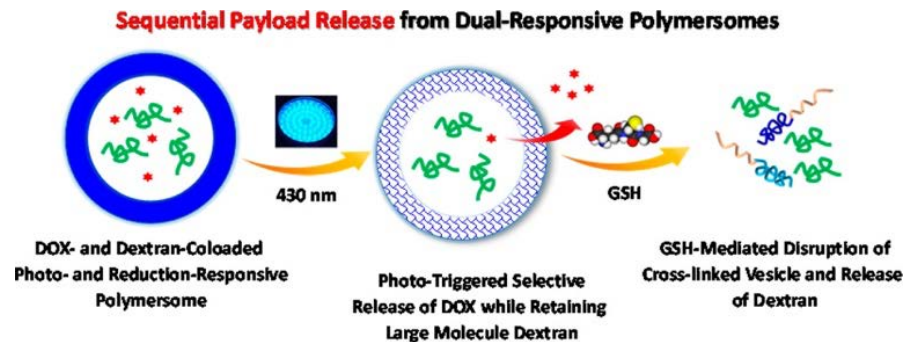


Figura 22. Mecanismo de liberación secuencial de DOX·HCl y dextrano desde un polimersoma sensible a la reducción y a la energía lumínica (Sun et al. 2018).

Esto puede confirmarse con el estudio de liberación *in vitro* de las dos moléculas. Tal y como se puede observar en la Figura 23, en presencia de irradiación y ausencia de GSH, solamente se aprecia liberación de DOX·HCl. Sin embargo, la liberación de dextrano se promueve cuando existe GSH en el medio, potenciándose también la liberación de DOX·HCl del interior del polimersoma.

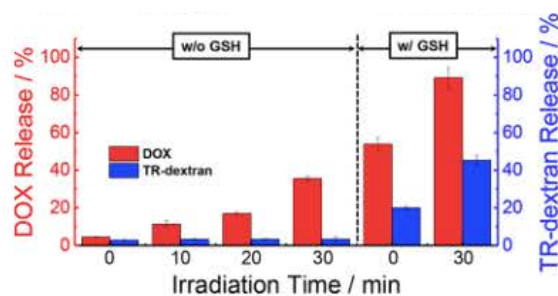


Figura 23. Tasas de liberación *in vitro* de DOX y TR-dextrano en función de la irradiación y presencia o no de GSH (10 mM) (Sun et al., 2018).

5. CONCLUSIONES

- Los polimersomas sensibles a estímulos son útiles para la liberación selectiva de fármacos en la diana terapéutica, por lo que la principal aplicación de este tipo de polimersomas es en la terapia contra el cáncer.
- La mayoría de los polimersomas descritos en la literatura son sensibles al pH, ya que es un parámetro de fácil ajuste y detección en la célula tumoral. Por el contrario, el estímulo menos empleado para la liberación de fármacos es la sobreexpresión enzimática en la membrana de la célula tumoral.
- Los estudios de liberación del fármaco *in vitro* demuestran que el fármaco se libera tras la aplicación del estímulo como consecuencia de la pérdida de integridad de la estructura del polimersoma.
- Los estudios *in vivo* demuestran la acumulación de los polimersomas en la célula tumoral por EPR, siendo mínima su presencia en los tejidos sanos. Esto se traduce en una disminución de los efectos adversos asociados a los fármacos administrados. Además, se obtiene un efecto terapéutico mantenido en el tiempo por prolongación de la vida media de los fármacos.

6. BIBLIOGRAFÍA

Albuquerque LJC, Sincari V, Jäger A, Kucka J, Humajova J, Pankrac J et al. pH-responsive polymersome-mediated delivery of doxorubicin into tumor sites enhances the therapeutic efficacy and reduces cardiotoxic effects. *J. Control. Release.* 2021; 332: 529–38.

Beauté L, McClenaghan N, Lecommandoux S. Photo-triggered polymer nanomedicines: From molecular mechanisms to therapeutic applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2019; 138: 148–66.

Benito E, Romero-Azogil L, Galbis E, de-Paz M-V, García-Martín M-G. Structurally simple redox polymersomes for doxorubicin delivery. *Eur. Polym. J.* 2020; 137: 109952.

Cabane E, Malinova V, Meier W. Synthesis of photocleavable amphiphilic block copolymers: Toward the design of photosensitive nanocarriers. *Macromol. Chem. Phys.* 2010; 211(17): 1847–56.

Che H, Yuan J. CO₂-responsive bowl-shaped polymersomes. *Macromol. Res.* 2017; 25(6): 635–9.

Chécot F, Lecommandoux S, Klok H-A, Gnanou Y. From supramolecular polymersomes to stimuli-responsive nano-capsules based on poly(diene-b-peptide) diblock copolymers. *Eur. Phys. J. E.* 2003; 10(1): 25–35.

Cho HK, Cheong IW, Lee JM, Kim JH. Polymeric nanoparticles, micelles and polymersomes from amphiphilic block copolymer. *Korean J. Chem. Eng.* 2010; 27(3): 731–40.

Deng Y, Chen H, Tao X, Cao F, Trépout S, Ling J et al. Oxidation-sensitive polymersomes based on amphiphilic diblock copolypeptoids. *Biomacromolecules.* 2019; 20(9): 3435–44.

DiazDuarte-Rodriguez M, Cortez-Lemus NA, Licea-Claverie A, Licea-Rodriguez J, Méndez ER. Dual responsive polymersomes for gold nanorod and doxorubicin encapsulation: Nanomaterials with potential use as smart drug delivery systems. *Polymers.* 2019; 11(6): 939.

Dong S, Liu L, Zhao H. Copper-coordination induced fabrication of stimuli-responsive polymersomes from amphiphilic block copolymer containing pendant thioethers. *Polym. Chem.* 2021; 12(21): 3105–15.

Einfalt T, Witzigmann D, Edlinger C, Sieber S, Goers R, Najer A et al. Biomimetic artificial organelles with in vitro and in vivo activity triggered by reduction in microenvironment. *Nat. Commun.* 2018; 9(1): 1127.

Gibson VP, Fauquignon M, Ibarboure E, Chain JL, le Meins J-F. Switchable lipid provides pH-sensitive properties to lipid and hybrid polymer/lipid membranes. *Polymers.* 2020; 12(3): 637.

Guo C, Yuan H, Zhang Y, Yin T, He H, Gou J et al. Asymmetric polymersomes, from the formation of asymmetric membranes to the application on drug delivery. *J. Control. Release.* 2021; 338: 422–45.

Hamidi M, Shahbazi M-A, Rostamizadeh K. Copolymers: efficient carriers for intelligent nanoparticulate drug targeting and gene therapy. *Macromol. Biosci.* 2012; 12(2): 144–64.

Harwansh RK, Deshmukh R, Barkat MA, Rahman MA. Bioinspired polymeric-based core-shell smart nano-systems. *Pharm. Nanotechnol.* 2019; 7(3): 181–205.

Hu X, Zhang Y, Xie Z, Jing X, Bellotti A, Gu Z. Stimuli-responsive polymersomes for biomedical applications. *Biomacromolecules.* 2017; 18(3): 649–73.

Ilysan B, Landfester K. Modular approach for the design of smart polymeric nanocapsules. *Macromol. Rapid Commun.* 2019; 40(1): 1800577.

Japir AA-WMM, Lu N, Wang Y, Mukerabigwi JF, Zhou Q, Ge Z. Membrane-cross-linked polymersomes with tumor pH-tunable selective permeability as intelligent nanoreactors and drug delivery vehicles. *Eur. Polym. J.* 2020; 138: 109982.

Jeong IK, Gao GH, Li Y, Kang SW, Lee DS. A biodegradable polymersome with pH-tuning on-off membrane based on poly(β -amino ester) for drug delivery. *Macromol. Biosci.* 2013; 13: 946–53.

Joglekar M, Trewyn BG. Polymer-based stimuli-responsive nanosystems for biomedical applications. *Biotechnol. J.* 2013; 8(8): 931–45.

Karandish F, Froberg J, Borowicz P, Wilkinson JC, Choi Y, Mallik S. Peptide-targeted, stimuli-responsive polymersomes for delivering a cancer stemness inhibitor to cancer stem cell microtumors. *Colloid Surf. B-Biointerfaces.* 2018a; 163: 225–35.

Karandish F, Mamnoon B, Feng L, Haldar MK, Xia L, Gange KN et al. Nucleus-targeted, echogenic polymersomes for delivering a cancer stemness inhibitor to pancreatic cancer cells. *Biomacromolecules*. 2018b; 19(10): 4122–32.

Khan RU, Yu H, Wang L, Zhang Q, Xiong W, Zain-ul-Abdin et al. Synthesis of polyorganophosphazenes and preparation of their polymersomes for reductive/acidic dual-responsive anticancer drugs release. *J. Mater. Sci*. 2020; 55(19): 8264–84.

Kim J, Kim KT. Polymersome-based modular nanoreactors with size-selective transmembrane permeability. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2020; 12(20): 23502–13.

Laskar P, Dey J, Banik P, Mandal M, Ghosh SK. In vitro drug and gene delivery using random cationic copolymers forming stable and pH-sensitive polymersomes. *Macromol. Biosci*. 2017a; 17(4): 1600324.

Laskar P, Dey J, Ghosh SK. Spontaneously formed redox- and pH-sensitive polymersomes by mPEG based cytocompatible random copolymers. *J. Colloid Interface Sci*. 2017b; 501: 22–33.

Li J, Li Y, Wang Y, Ke W, Chen W, Wang W et al. Polymer prodrug-based nanoreactors activated by tumor acidity for orchestrated oxidation/chemotherapy. *Nano Lett*. 2017; 17(11): 6983–90.

Li Z, Fan F, Ma J, Yin W, Zhu D, Zhang L et al. Oxygen-and bubble-generating polymersomes for tumor-targeted and enhanced photothermal-photodynamic combination therapy. *Biomater. Sci*. 2021; 9(17): 5841-53.

Liu F, Kozlovskaya V, Medipelli S, Xue B, Ahmad F, Saeed M et al. Temperature-sensitive polymersomes for controlled delivery of anticancer drugs. *Chem. Mat*. 2015; 27: 7945–56.

Lomora M, Garni M, Itef F, Tanner P, Spulber M, Palivan CG. Polymersomes with engineered ion selective permeability as stimuli-responsive nanocompartments with preserved architecture. *Biomaterials*. 2015; 53: 406–14.

LoPresti C, Lomas H, Massignani M, Smart T, Battaglia G. Polymersomes: nature inspired nanometer sized compartments. *J. Mater. Chem*. 2009; 19(22): 3576–90.

Meng F, Zhong Z, Feijen J. Stimuli-responsive polymersomes for programmed drug delivery. *Biomacromolecules*. 2009; 10(2): 197–209.

Moorcroft SCT, Jayne DG, Evans SD, Ong ZY. Stimuli-responsive release of antimicrobials using hybrid inorganic nanoparticle-associated drug-delivery systems. *Macromol. Biosci.* 2018; 18(12): 1800207.

Moreno S, Boye S, Al Ajeilat HG, Michen S, Tietze S, Voit B et al. Multivalent protein-loaded pH-stable polymersomes: first step toward protein targeted therapeutics. *Macromol. Biosci.* 2021; 21(10): 2100102.

Napoli A, Boerakker MJ, Tirelli N, Nolte RJM, Sommerdijk NAJM, Hubbell JA. Glucose-oxidase based self-destructing polymeric vesicles. *Langmuir.* 2004; 20(9): 3487–91.

Onaca O, Enea R, Hughes DW, Meier W. Stimuli-responsive polymersomes as nanocarriers for drug and gene delivery. *Macromol. Biosci.* 2009; 9(2): 129–39.

Pramanik P, Ghosh S. Thermoresponsive polymersome from a double hydrophilic block copolymer. *J. Polym. Sci. Pol. Chem.* 2015; 53(21): 2444–51.

Saravanakumar G, Park H, Kim J, Park D, Lim J, Lee J et al. Polymersomes with singlet oxygen-labile poly(β -aminoacrylate) membrane for NIR light-controlled combined chemophototherapy. *J. Control. Release.* 2020; 327: 627–40.

39. Singh V, Md S, Alhakamy NA, Kesharwani P. Taxanes loaded polymersomes as an emerging polymeric nanocarrier for cancer therapy. *Eur. Polym. J.* 2022; 162: 110883.

de Souza VV, Carretero GPB, Vitale PAM, Todeschini Í, Kotani PO, Saraiva GKV et al. Stimuli-responsive polymersomes of poly [2-(dimethylamino) ethyl methacrylate]-b-polystyrene. *Polym. Bull.* 2022; 79(2): 785–805.

Sun Z, Liu G, Hu J, Liu S. Photo- and reduction-responsive polymersomes for programmed release of small and macromolecular payloads. *Biomacromolecules.* 2018; 19(6): 2071–81.

Tsai M-F, Lo Y-L, Huang Y-C, Yu C-C, Wu Y-T, Su C-H et al. Multi-stimuli-responsive DOX released from magnetosome for tumor synergistic theranostics. *Int. J. Nanomed.* 2020; 15: 8623–39.

Ward MA, Georgiou TK. Thermoresponsive polymers for biomedical applications. *Polymers.* 2011; 3(3): 1215–42.

Wei P, Sun M, Yang B, Xiao J, Du J. Ultrasound-responsive polymersomes capable of endosomal escape for efficient cancer therapy. *J. Control. Release.* 2020; 322: 81–94.

Zhou D, Fei Z, Jin L, Zhou P, Li C, Liu X et al. Dual-responsive polymersomes as anticancer drug carriers for the co-delivery of doxorubicin and paclitaxel. *J. Mater. Chem. B.* 2021; 9(3): 801–8.

Zhu D, Fan F, Huang C, Zhang Z, Qin Y, Lu L et al. Bubble-generating polymersomes loaded with both indocyanine green and doxorubicin for effective chemotherapy combined with photothermal therapy. *Acta Biomater.* 2018; 75: 386–97.

7. GLOSARIO

AuNR: Nanovarillas de oro	PBMA: Poli[2-hidroxi-4-(metacriloxi)benzofenona]
BBI608: Napabucasina	PCL: Poli(ϵ -caprolactona)
BHE: Barrera hematoencefálica	PCSSMA: Polímero basado en cumarina con enlace disulfuro
Cal: Calceína	PDEAEMA: Poli[2-(dietilamino)etil metacrilato]
CAT1: Trimetilamonio-2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-yoduro de oxilo	PDMAEMA: Poli[2-(dimetilamino)etil metacrilato]
CPT: Camptotecina	PDMS: Poli(dimetilsiloxano)
CPTMA: Monómeros metacrílicos de camptotecina	PDPAEMA: Poli[2-(diisopropilamino)etil metacrilato]
CST: Temperatura crítica de solución	PEG/PEO: Polietilenglicol
Cy7: DBCO-Cianina 7	PEGMA: Polietilenglicol-metacrilato
DOX: Doxorubicina	PEMA: Piperidina
DOX·HCl: Clorhidrato de doxorubicina	PHPMA: Poli[N-(2-hidroxiopropil)metacrilamida]
DTT: Ditiotreitól	PLA: Ácido poliláctico
EPR: Efecto de permeación y retención mejorada	PMAA: Poli(ácido metacrílico)
GOx: Glucosa oxidasa	PMEMA: Poli(metoxietil metacrilato)
GSH: Glutatión	PMESPG: Poli[N-3-(metiltio)propil glicina]
H₂O₂: Peróxido de hidrógeno	PNIPAM: Poli(N-isopropilacrilamida)
ICG: Verde de indocianina	PPDPs: Poli[(mPEG-SS-amino) (N,N-diisopropiletilediamino)fosfacenos]
LCST: Temperatura crítica de solución baja	PS: Poliestireno
MET: Metionina	PSar: Polisarcosina
mPEG: Metoxipolietilenglicol	PTMBPEC: Poli(2,4,6-trimetoxibenzilidenopentaeritritol carbonato
2NPA: 2-nitrofenilalanina	PTX: Paclitaxel
NH₄HCO₃: Bicarbonato amónico	PVCL: Poli(N-vinilcaprolactama)
NIR: Radiación del infrarrojo cercano	ROS: Especies reactivas de oxígeno
¹O₂: Oxígeno singlete	SH: Tíol
O₂: Oxígeno molecular	TPP: Tetrafenilporfirina
O₂⁻: Anión superóxido	UCST: Temperatura crítica de solución alta
OH[•]: Radical hidroxilo	UV: Luz ultravioleta
PAA: Poli(ácido acrílico)	
PAE: Poli(β -amino éster)	
PBC: Éster fenilborónico carbamato	