



Facultad de Farmacia
Universidad de La Laguna

TRABAJO DE FIN DE GRADO

UTILIZACIÓN DE LAS CICLODEXTRINAS

EN BIOTECNOLOGÍA

Dpto. Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica

Área de conocimiento: Farmacia y Tecnología Farmacéutica

Autora: Marlene Martín Cebrián

Tutora: María Magdalena Echezarreta López

Curso Académico 2021-2022

Convocatoria: Junio 2022

ÍNDICE

ABSTRACT	3
KEYWORDS	3
RESUMEN	3
PALABRAS CLAVE	3
ABREVIATURAS	4
1. INTRODUCCIÓN.....	5
2. OBJETIVOS	9
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	10
4.1. APLICACIONES COMO MOLÉCULAS CON PROPIEDADES TECNOLÓGICAS.....	11
4.1.1. <i>Vacunas</i>	11
4.1.1.1. Uso como criopreservantes.....	11
4.1.1.2. Uso como adyuvantes.....	11
4.1.2. <i>Terapia génica: quimioterapia</i>	13
4.1.2.1. Aplicación en terapias combinadas.....	17
4.2. APLICACIONES COMO MOLÉCULAS CON ACTIVIDAD TERAPÉUTICA.....	18
5. CONCLUSIONES.....	24
6. BIBLIOGRAFÍA.....	25

Abstract

Pharmaceutical biotechnology is focus on the development of new therapeutic, diagnostic or preventive biopharmaceuticals. Cyclodextrins (CDs) are cyclic oligosaccharides known for their use as excipients to increment solubility and bioavailability of drugs. This review explains different biotechnological applications for beta-cyclodextrin (β -CD) derivatives such as vaccines and gene therapy vectors development as well as its research as novel antiviral agents. Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin (HP- β -CD) has emerged as vaccine adjuvant with lower toxicity than alum. Moreover, cationic CDs polymers have demonstrated attractive properties that could improve efficiency of gene delivery systems. The recent pandemic made clear the importance of having access to broad spectrum antivirals and it has accelerated the research of new effective molecules like sulfonated CDs that have shown promising virucidal activity.

Keywords: beta-cyclodextrin, vaccines, non-viral vectors, antivirals.

Resumen

La biotecnología farmacéutica está enfocada al desarrollo de nuevos biofármacos con fin terapéutico, diagnóstico o preventivo. Las ciclodextrinas (CDs) son oligosacáridos cíclicos conocidos principalmente por su aplicación como excipientes para potenciar la solubilidad y la biodisponibilidad de los fármacos. Esta revisión bibliográfica explica distintas aplicaciones biotecnológicas de los derivados de la beta-ciclodextrina (β -CD), como en el desarrollo de vacunas y vectores para terapia génica, así como su estudio como novedosos agentes antivirales. La hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD) ha surgido como adyuvante en vacunas con menor toxicidad que las sales de aluminio. Además, los polímeros catiónicos de CDs muestran atractivas propiedades para mejorar la eficacia de los sistemas no virales de transporte y liberación de genes. La reciente pandemia ha dejado clara la importancia de tener acceso a antivirales de amplio espectro y ha acelerado la búsqueda de nuevas moléculas efectivas, como las CDs sulfonadas, que han demostrado una prometedora actividad virucida.

Palabras clave: beta-ciclodextrina, vacunas, vectores no virales, antivirales.

Abreviaturas

α -CD	Alfa-ciclodextrina
β -CD	Beta-ciclodextrina
γ -CD	Gamma-ciclodextrina
Ad	Adamantilo
BSC	Sistema de clasificación biofarmacéutica
Cas9	Proteína 9 asociada a CRISPR
CDs	Ciclodextrinas
CGTasa	Ciclodextrina -glucosiltransferasa
DENV-2	Virus dengue tipo 2
DOX	Doxorubicina
ENP-C	Enfermedad de Niemann-Pick tipo C
EVE	Virus del ébola
FA	Ácido fólico
FR	Receptor de folato
HA	Hemaglutinina
HCV	Virus de la hepatitis C
HIV	Virus inmunodeficiencia humana
HMPV	Meptaneumovirus humano
HP- β -CD	Hidroxipropil-beta-ciclodextrina
HS	Herpan-sulfato
HSV-1	Virus herpes simplex tipo 1
HSV-2	Virus herpes simplex tipo 2
HSV-2 R ACV	Virus herpes simplex tipo 2 aciclovir resistente
IBV	Virus de bronquitis infecciosa
IgE	Inmunoglobulina E
JEV	Virus de la encefalitis japonesa
mRNA	ARN mensajero
miRNA	micro-ARN
PIV3	Virus parainfluenza humana tipo 3
pDNA	ADN plasmático
PEG	Polietilenglicol
PEI	Polietilenimina
RM- β -CD	Metil-beta-ciclodextrina
RSV-A	Virus respiratorio sincitial tipo A
RSV-B	Virus respiratorio sincitial tipo B
SA	Ácido siálico
SBE- β -CD	Sulfobutiléter-beta-ciclodextrina
siRNA	ARN silenciador
SIV	Virus de inmunodeficiencia en simios
SL- β -CD	Sulfolipo-beta-ciclodextrina
Th2	Linfocitos T helper 2
Thf	Linfocitos T helper foliculares
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana
VSV	Virus de la estomatitis vesicular
ZIKV	Virus del zika

1. Introducción

La palabra “biotecnología” proviene de las palabras griegas “bios”, todo lo que tiene que ver con la vida, y “técnica”, que implica conocimiento y habilidades humanas⁽¹⁾.

La Sociedad Americana de Química define la biotecnología como “la aplicación de organismos biológicos, sistemas o procesos por diversas industrias con el fin de aprender sobre las ciencias de la vida e incrementar el valor de materiales y organismos tales como productos farmacéuticos, cultivos agrícolas o ganado”⁽¹⁾.

En el ámbito clínico, la biotecnología es esencial en el desarrollo de nuevos productos terapéuticos, preventivos o diagnósticos. Concretamente, la biotecnología farmacéutica es un campo en el que se aplican los principios de biotecnología al diseño, producción y evaluación de fármacos como proteínas y enzimas, producidas mediante ingeniería genética, anticuerpos monoclonales o fragmentos de anticuerpos, vacunas, terapia regenerativa, productos hemáticos y vectores para terapia génica^(1,2).

Hoy en día, la investigación en el ámbito farmacéutico se centra en la aplicación de la nanotecnología para el desarrollo de nuevos métodos diagnósticos y terapéuticos. Se ha demostrado que los sistemas basados en nanopartículas pueden mejorar la biodisponibilidad, reducir la inmunogenicidad, modificar el metabolismo, reducir toxicidad e incrementar la vida media de los fármacos, tras su administración sistémica. Su gran variabilidad de tamaños puede llegar a una escala similar a la de muchas moléculas biológicas y agentes infecciosos, por lo que permiten intervenir a nivel molecular^(3,4). Por esta razón, se está estudiando la posibilidad de emplear nanopartículas de ciclodextrinas (CDs) como vehículos para la liberación de fármacos o biomoléculas y incluso para el tratamiento de diferentes patologías como el cáncer^(2,3,5). Las CDs son oligosacáridos cíclicos obtenidos mediante la degradación del almidón por la enzima ciclodextrina-glucosiltransferasa (CGTAsa). Constituidas por unidades de glucosa unidas por enlaces α -(1,4) glucosídicos, las CDs nativas se clasifican en: alfa-ciclodextrina (α -CD), beta-ciclodextrina (β -CD) o gamma-ciclodextrina (γ -CD), según el número de unidades de glucosa que presentan (Figura 1)^(3,4,6-12). Cada CD tiene estructura, tamaño y propiedades químicas diferentes (Tabla 1).

Tabla 1. Estructura propiedades y características de las ciclodextrinas nativas⁽³⁾.

Características y propiedades	Tipo de ciclodextrina		
	α -CD	β -CD	γ -CD
Peso molecular (g/mol)	972	1135	1297
Diámetro interno (Å)	4'7-5'3	6'0-6'5	7'5-8'3
Diámetro externo (Å)	14'6	15'4	17'5
Altura (Å)	7'9 \pm 0'1	7'9 \pm 0'1	7'9 \pm 0'1
Volumen de la cavidad (Å)	174	262	427
Solubilidad en agua a 25°C (% w/w)	145	18'5	233
Constante de difusión a 40°C	3.443	3.224	3.000
pK a 25°C	12,332	12,202	12,081

Estructuralmente se caracterizan por su forma de cilindro cónico (Figura 1) y su naturaleza anfílica, adquirida gracias a la posición específica de los grupos funcionales: la capa externa hidrofílica, formada por grupos hidroxilo secundarios, y la cavidad lipofílica, formada por grupos hidroxilo primarios (Figura 2)^(1,3,6-8,10,11,13).

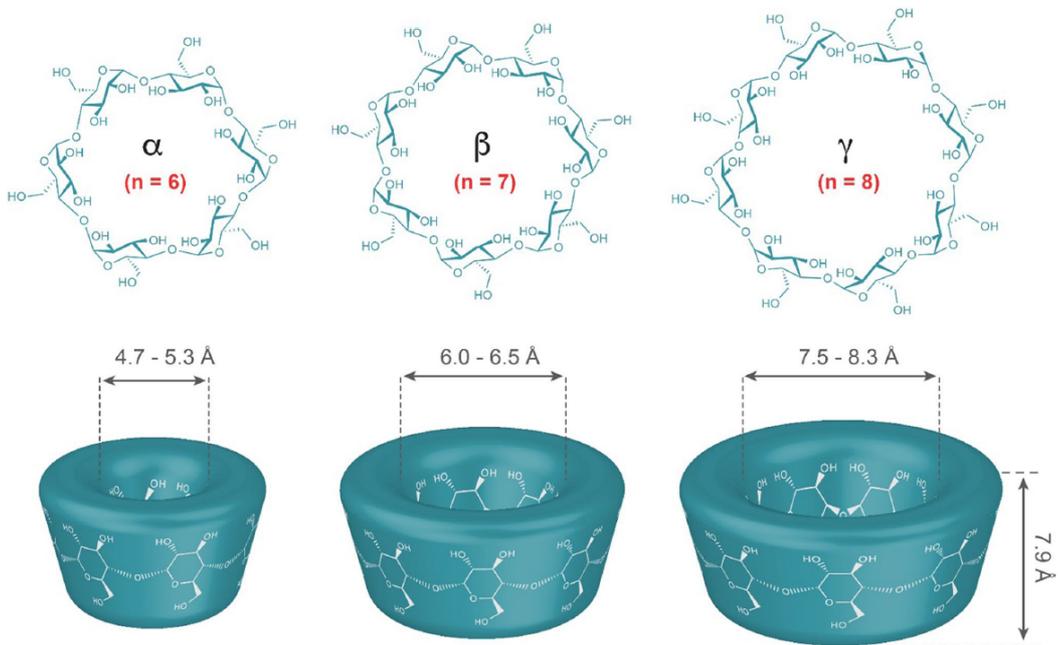


Figura 1. Estructura de las ciclodextrinas nativas⁽⁴⁾.

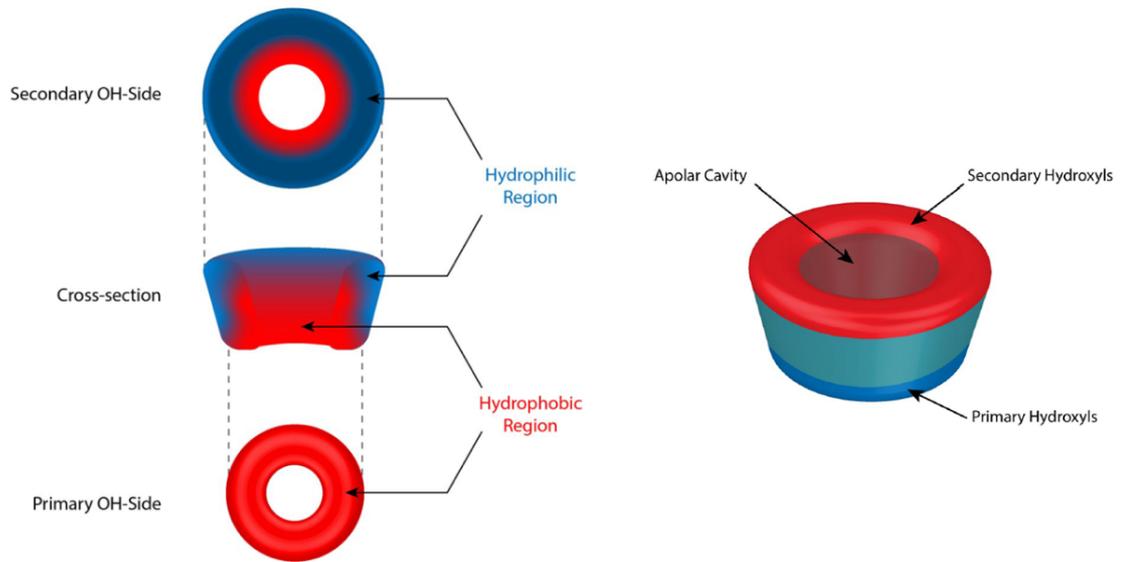


Figura 2. Distribución de grupos hidroxilo y regiones hidrofílicas e hidrofóbicas de las CDs⁽¹³⁾.

Esta distribución de los grupos polares en la estructura les proporciona una geometría única que permite una fácil disolución en medios acuosos a la vez que acoger en su cavidad hidrofóbica moléculas poco solubles, formando así los conocidos como complejos de inclusión(Figura 3)^(1,3,4,6-11,13-15).

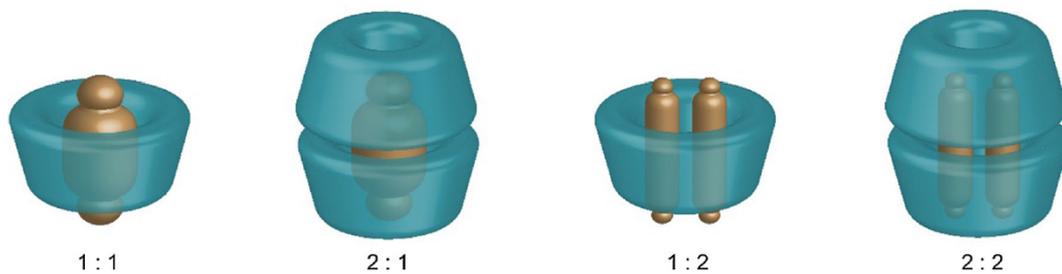


Figura 3. Complejos de inclusión formados por ciclodextrinas⁽⁴⁾.

De esta manera, aparte de mejorar la solubilidad y consecuentemente la biodisponibilidad de las moléculas huésped, enmascaran sabores desagradables y proporcionan protección frente a la oxidación, el calor y/o la radiación ultravioleta^(1,3,4,6,10,11). Por esta razón, las CDs son ampliamente utilizadas para incrementar la solubilidad, proteger o reducir la toxicidad de un amplio grupo de moléculas^(6,14).

Tabla 2. Características de β -CD y sus principales derivados^(3,6).

Ciclodextrina	β -CD	HP- β -CD	RM- β -CD	SBE- β -CD
Peso molecular (g/mol)	1132	1400	1312	2163
Solubilidad en agua a 25°C (mg/ml)	18'5	>600	>500	>500

HP- β -CD = hidroxipropil- β -ciclodextrina; M- β -CD = metil- β -ciclodextrina; SBE- β -CD = sulfobutiléter- β -ciclodextrina.

Para optimizar sus propiedades, las CDs nativas pueden ser químicamente modificadas mediante funcionalización con diversos sustituyentes dando lugar a derivados sintéticos (Figura 4) que presentan una mayor eficacia en la formación de complejos y en la liberación de fármacos, al igual que mejor solubilidad y penetración a través de la membrana (Tabla 2)^(3,6,8-10,14,15). Las CDs derivadas más utilizadas en el campo farmacéutico y biotecnológico son los derivados de β -CD: hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP- β -CD), metil- β -ciclodextrina (RM- β -CD) y sulfobutiléter- β -ciclodextrina (SBE- β -CD)^(13,16).

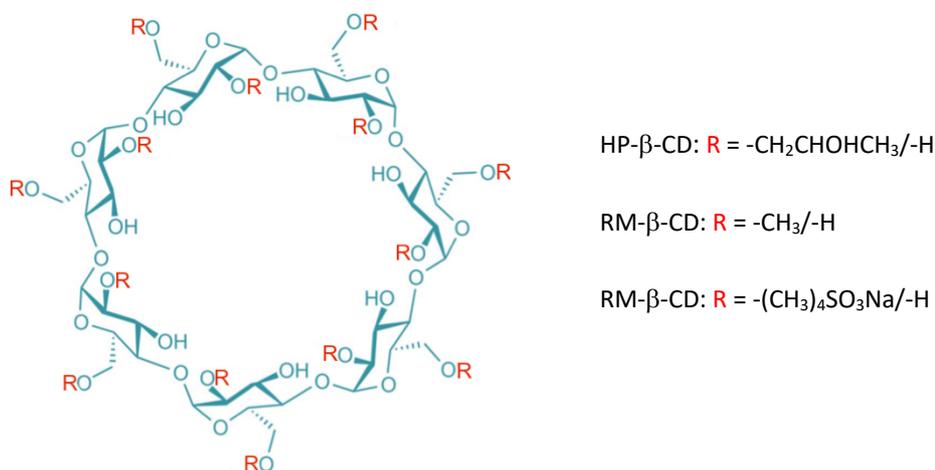


Figura 4. Representación estructural de las β -CDs derivados^(3,13).

Debido a su baja toxicidad, biodisponibilidad y absorción en el tracto gastrointestinal las CDs son consideradas seguras para la administración vía oral^(1,3,7,9-11,17). Sin embargo, debido a la capacidad para extraer fosfolípidos y colesterol de las membranas lipídicas tienen efectos hemolíticos y nefrotóxicos por lo que algunas CDs no se consideran seguras para la administración sistémica^(1,16). En la Tabla 3 se recogen las formulaciones para las que se ha aprobado el uso de las CDs, incluyendo restricciones de uso y vías de administración.

Tabla 3. Vías de administración, restricción de uso y principales problemas de toxicidad de las CDs y sus derivados aprobadas por la EMA^(11,16).

Ciclodextrina	Vías de administración						Toxicidad
	Oral	Nasal	Rectal	Tópica	Ocular	Parenteral	
α -CD	-	-	-	-	-	✓	Hemolítica
β -CD	✓	-	✓	✓	✓	No permitido	Nefrotóxica, hemolítica
γ -CD	✓	-	-	✓	-	-	Hemolítica
HP- β -CD	✓	-	✓	✓	✓	✓	-
SBE- β -CD	✓	-	-	-	-	✓	-
RM- β -CD	No permitido	✓	-	-	✓	No permitido	Nefrotóxica, hemolítica

HP- β -CD es el derivado más utilizado dada su baja toxicidad y alta tolerabilidad. En cambio, RM- β -CD está limitada a formulaciones de administración nasal y ocular debido a su alta actividad hemolítica y nefrotóxica, incluso superiores a las de β -CD nativa. Por último, SBE β -CD fue desarrollada para evitar la nefrotoxicidad característica de las CDs por lo que puede emplearse en fármacos orales y sistémicos^(11,16,17).

2. Objetivos

El principal objetivo de este trabajo es conocer las actuales aplicaciones de las ciclodextrinas, concretamente las β -CD derivadas, en el campo de la biotecnología farmacéutica, desde un aspecto tecnológico, en la elaboración de vacunas y como vehículos para terapia génica, y por su función terapéutica como moléculas activas.

3. Materiales y métodos.

Para la elaboración de esta revisión se ha realizado una búsqueda bibliográfica en bases de datos de referencia como PubMed, Elsevier, MPDI, SpringerLink y el Punto Q introduciendo el término *cyclodextrin* seguido de palabras claves como *pharmaceutical biotechnology*, *vaccines*, *antivirals gene therapy* y *cancer therapy*. Además, se consultó la sede electrónica de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) para conocer la

regulación actual de las CDs así como datos de toxicidad y limitaciones de uso. En la Tabla 4 se recogen los criterios de inclusión y exclusión empleados.

Tabla 4. Criterios aplicados durante la búsqueda de referencias bibliográficas.

Criterios de inclusión	<ul style="list-style-type: none"> • Fecha de publicación: 2017-2022. • Idioma: español, inglés. • Publicaciones (artículos, revistas, libros electrónicos) de acceso libre o con acceso a través de la institución esté permitido. • Historia del uso de las CDs en el campo farmacéutico. • Publicaciones que aporten información sobre el uso de β-CDs en: <ul style="list-style-type: none"> ○ La industria farmacéutica y biotecnológica. ○ Desarrollo y/o proceso de elaboración de vacunas. ○ Terapia génica como vectores no virales. ○ Tratamiento del cáncer en combinación con terapia génica. ○ Aplicaciones por actividad terapéutica propia, como antivirales de amplio espectro.
Criterios de exclusión	<ul style="list-style-type: none"> • Patentes. • Artículos que no aporten información general de la historia y/o usos de las CDs. • Ensayos donde el uso de las CDs se limita al cultivo celular. • Aplicación en antifúngicos o antiprotozoarios. • Correcciones de artículos ya publicados. • Uso de las CDs para mejorar la efectividad de antivirales, quimioterapia o inmunoterapia. • CDs como antiparasitarios, coagulantes, en la dieta. • Uso de las CDs tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares. • Uso de α-CDs y/o γ-CDs. • Artículos no centrados en el uso de β-CDs en vehículos para terapia génica. • Aplicaciones en combinadas con terapia génica diferentes al tratamiento antitumoral.

4. Resultados y discusión.

<i>Búsqueda realizada</i>	<i>Resultados obtenidos</i>	<i>Resultados empleados</i>
<i>Cyclodextrins pharmaceutical biotechnology</i>	329	8
<i>Cyclodextrin vaccines</i>	22	6
<i>Cyclodextrin antiviral</i>	87	6
<i>Cyclodextrin gene therapy</i>	67	4
<i>Cyclodextrin cancer therapy</i>	147	5

Se obtuvieron 652 resultados, de los cuales 29 cumplen los criterios de inclusión.

4.1. Aplicaciones como moléculas con propiedades tecnológicas.

4.1.1. Vacunas.

4.1.1.1. Uso como criopreservantes.

Las CDs son capaces de mejorar la estabilidad y solubilidad de las proteínas: encapsulan los aminoácidos manteniendo la estructura de las proteínas, por lo que inhiben su agregación sin afectar su actividad. Del mismo modo, incrementan su termoestabilidad al protegerlas frente a la desnaturalización durante el proceso de liofilización^(5,18,19). Por ello, se ha propuesto su uso en vacunas como preservantes.

La vacuna contra el SARS-CoV-2 desarrollada por Janssen (Jcovden®) contiene HP-β-CD como criopreservante^(17,20). Esta vacuna está formulada como preparado extemporáneo para la administración intramuscular y para su elaboración es necesaria una etapa de liofilización, en la cual se emplean temperaturas muy bajas que podrían dañar la superficie de las partículas víricas (Figura 5). De manera que HP-β-CD se incorpora a la formulación para estabilizar la superficie de las partículas susceptibles, garantizando así su protección^(11,20).

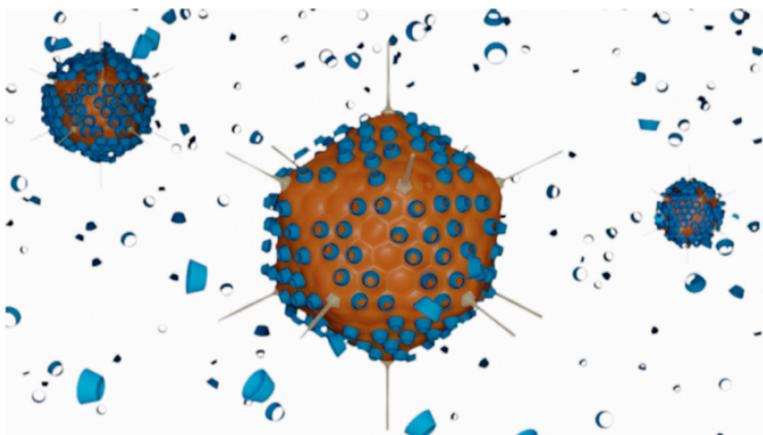


Figura 5. Representación de las interacciones entre HP-β-CD y las partículas de adenovirus en la vacuna Jcovden®. Las moléculas de ciclodextrinas actúan como criopreservantes ayudando a estabilizar la estructura del virus durante la etapa de liofilización.⁽¹¹⁾

4.1.1.2. Uso como adyuvantes.

Hasta el momento, las sales de aluminio son el único adyuvante seguro aprobado para vacunas humanas. No obstante, presenta ciertos inconvenientes como baja inmunogenicidad e inducción de altos títulos de inmunoglobulina E (IgE), lo que lleva al desarrollo de autoinmunidad. Por tanto, es importante desarrollar nuevos adyuvantes

con menor toxicidad⁽⁸⁾. Con el desarrollo de la nanotecnología, el empleo de nanopartículas de CDs como adyuvantes en vacunas han suscitado gran interés ya que pueden proteger al antígeno frente a la degradación, aseguran la liberación sostenida del antígeno y potencian la respuesta inmune⁽²¹⁾.

La primera vacuna adyuvada con CDs que se comercializó fue Suvacyn PCV[®]. Esta vacuna de uso veterinario, desarrollada por Zoetis, presenta como adyuvante sulfolipo- β -ciclodextrina (SL- β -CD), un derivado de β -CD diseñado como adyuvante por su buena seguridad toxicológica y su capacidad para inducir la producción de anticuerpos y una alta proliferación linfocítica en modelos animales^(4,11).

Para la aplicación de CDs como adyuvantes en vacunas humanas, la mejor opción sería la HP- β -CD pues su uso como excipiente está aprobado debido a su excelente perfil de seguridad⁽¹⁶⁾. Esta β -CD derivada puede actuar como un inmunoestimulante con exposiciones prolongadas causando un aumento de monocitos (más de un 150%) y recuento de células blancas (15%). Y, tras una sola co-administración con antígeno, es capaz de inducir un incremento en la proliferación de células T (linfocitos T-helper 2 (Th2) y linfocitos T helper foliculares (Thf))⁽¹¹⁾. La respuesta celular de Th2 favorece la producción de anticuerpos antígeno-específicos, logrando una mayor respuesta inmune, e induce la maduración de células dendríticas, contribuyendo así al mantenimiento de la inmunidad a largo plazo. Además, al contrario que las sales de aluminio, HP- β -CD genera bajos títulos de IgE reduciendo así el riesgo de reacciones alérgicas^(11,14,22,23).

Teniendo esto en cuenta, la farmacéutica japonesa Daiichi Sankyo está desarrollando una vacuna intranasal contra el virus de la gripe que emplea HP- β -CD como adyuvante^(9,14). Los ensayos realizados demostraron que la administración de este derivado aumentó la inmunogenicidad con un incremento del 30% en la producción de anticuerpos y, a su vez, disminuyó la infectividad del virus, con un ratio del 100% de supervivencia en ratones inyectados con una dosis letal de virus de la gripe^(9,11,14). Es más, HP- β -CD induce inmunoglobulinas antígeno-específicas en tejidos mucosos de la vía respiratoria y en el torrente sanguíneo, es decir, que la respuesta no se limita al lugar de administración⁽¹⁴⁾. Asimismo, induce la producción de células Th2, responsable de la memoria inmune a largo plazo, y la generación de Thf, que estimulan las células B^(11,14). Además, tras la administración local nasal, se genera respuesta sistémica que se

extiende a todo el organismo promoviendo la inmunización⁽¹⁴⁾. Por tanto, esta nueva vacuna podría ser una buena alternativa para evitar las inyecciones anuales para la administración de la vacuna.

Estos prometedores resultados en ensayos animales han incitado la elaboración de una vacuna para uso humano⁽¹¹⁾. Actualmente, dicha vacuna está en ensayos clínicos de fase I y podría ser la primera vacuna humana comercializada con CDs como adyuvantes. La aprobación de esta vacuna proporcionaría una prometedora perspectiva para el desarrollo de vacunas con un perfil de seguridad mucho más elevado^(11,14).

4.1.2. Terapia génica: quimioterapia.

La terapia génica es una potente herramienta contra los trastornos genéticos y enfermedades como el cáncer, puesto que permite actuar directamente en el origen de la enfermedad⁽¹⁵⁾.

El principal reto de la terapia génica es el transporte de material genético a través de barreras biológicas, pues para ello se requieren vectores con gran especificidad, baja toxicidad y capaces de liberar de forma controlada la carga genética⁽¹⁵⁾.

Con la transferencia de genes mediante vectores virales o *transducción* se logra una alta eficiencia en la transferencia de genes; sin embargo, su alta inmunogenicidad y la inhibición de la transducción por la presencia de anticoagulantes específicos pueden disminuir la eficacia de la liberación, el procesamiento y la expresión del material genético transferido en las células diana^(10,15). Para superar estas limitaciones surge el diseño de vectores no virales, con el objetivo de alcanzar similar eficacia de transfección, empleando materiales con un mecanismo de entrada similar al viral pero mejorando su seguridad, inmunogenicidad y manufacturación (Tabla 5)⁽¹⁵⁾.

Tabla 5. Ventajas del uso de vectores no virales en terapia génica^(10,15).

1. Mayor biocompatibilidad: no adquieren competencias de replicación ni mutagénesis por inserción.
2. Mayor capacidad de carga.
3. Es posible funcionalización específica de sus superficies.
4. Reduce la estimulación de la respuesta del sistema inmune innato.
5. Protegen a los ácidos nucleicos de las nucleasas y los componentes del suero pero en ocasiones no logran liberar suficiente material genético, algunos han producido toxicidad o inmunogenicidad y pueden ser difícil de reproducir.
6. Bajo coste de producción.

No obstante, al igual que los vectores virales, presentan ciertas desventajas que limitan su uso (Tabla 6), por lo que para lograr una transición de vectores virales a no virales es necesario mejorar estos sistemas de transporte explorando nuevas plataformas de liberación o integrando nuevos componentes a vehículos existentes⁽¹⁵⁾.

Tabla 6. Desventajas de la aplicación de vectores virales y no virales en terapia génica^(10,15).

Vectores virales	Vectores no virales
<ul style="list-style-type: none"> • Alta inmunogenicidad. • Alto coste. • Inhibición de la transducción por ciertos anticoagulantes. • Límite en el número de pares de bases a encapsular. Ej.: 7,5 kb para adenovirus. • Competentes para la replicación. • Mutagénesis por inserción. 	<ul style="list-style-type: none"> • Baja eficacia en la transfección: liberación insuficiente de material genético. • Corto tiempo de retención. • Baja eficacia terapéutica en tejidos diana: liberación endosomal insuficiente en las células diana. • Requieren sucesivas administraciones para lograr efectos terapéuticos satisfactorios. • Algunos presentan toxicidad e inmunogenicidad.

En la transferencia de genes mediante vectores no virales o *transfección* el ADN sufre una complejación con polímeros catiónicos dando lugar a *poliplejos* en los que el ADN es protegido contra la degradación por nucleasas y componentes del suero, debido a la reducción de la carga superficial negativa (Tabla 7)^(10,15).

Tabla 7. Propiedades de los polímeros catiónicos beneficiosas para la terapia génica^(12,15,24).

Polímeros catiónicos (ej. PEI) y CDs policationicas*
<ul style="list-style-type: none"> • Su carga superficial positiva permite la interacción electrostática entre el polímero y ácidos nucleicos con cargas negativas (pDNA, mRNA, siRNA, miRNA, cas9). • Esta interacción induce la condensación del polímero y el ácido nucleico dando lugar a complejos, denominados poliplejos, que transportan y protegen el material genético durante su transporte. • Presentan efecto “esponja de protones”: protones y aniones son atraídos hacia el endosoma por la presencia del poliplejo. Esto causa la entrada de agua, para equilibrar el gradiente osmótico, resultando en la ruptura del endosoma. Esto permite la salida del poliplejo y la liberación intracelular de la carga genética. • Son modulables tanto en tamaño como en el tipo de material genético empleado en el transporte.

Para lograr que un sistema no viral de transporte de genes sea eficaz debe cumplir múltiples funciones: protección y estabilidad del material genético, evitar la unión y/o captación celular no específica y la eliminación por fagocitosis, baja toxicidad, capacidad de ser específicamente dirigido contra células de interés y lograr una eficaz liberación citoplasmática^(7,25).

Investigaciones actuales para el diseño de nuevos sistemas de transporte de genes se centran en la habilidad de las CDs para formar polímeros catiónicos autoensamblados(Figura 6)^(7,12). Por ejemplo, se han diseñado polímeros de polietiliminina (PEI) modificados (PEI- β -CD) incorporando a sus ramificaciones una β -CD terminal^(7,11,15).

PEI es un polímero catiónico considerado el *gold standard* del transporte genético no viral (Tabla 7). Sus polímeros ramificados son los más eficaces pero una mayor ramificación conlleva un aumento de la citotoxicidad. Por lo que su uso de está limitado por su toxicidad pues la reducción de dosis a niveles no tóxicos resulta en una baja eficacia de transfección y corta duración en la expresión génica⁽¹⁵⁾. La incorporación de CDs a PEI (PEI- β -CD) puede reducir la toxicidad, ya que permiten emplear polímeros de menor peso molecular a la vez que mantiene sus propiedades de transfección, y aumenta la condensación del material genético^(15,24). Además, la terminación con β -CD permite aprovechar la habilidad innata de las CDs de autoensamblaje para así crear estructuras estables aunque reversibles^(3,7,12,15).

Por tanto, al incorporar β -CDs al PEI se logra una mayor eficacia en la transfección e indirectamente reduce la toxicidad al poder reducir las dosis requeridas para alcanzar niveles terapéuticos de transfección^(5,11,15).

Debido a sus cargas positivas, los polímeros catiónicos tienden a unirse a todo tipo de células, por lo que es imprescindible minimizar la unión inespecífica a células no diana^(7,25). La incorporación de polietilenglicol (PEG) permite crear una capa externa que actúe como protección del sistema^(10,15,25). Este recubrimiento protector con PEG reduce la inmunogenicidad, al minimizar la exposición de tejidos no diana, permite una liberación selectiva en zonas diana como tumores y aumenta los tiempos de circulación, mejorando indirectamente la eficacia de transfección: una mayor presencia del vector en el microambiente celular puede aumentar la eficacia del tratamiento al proporcionar la liberación de carga genética en un lugar específico durante más tiempo^(10,12,15).

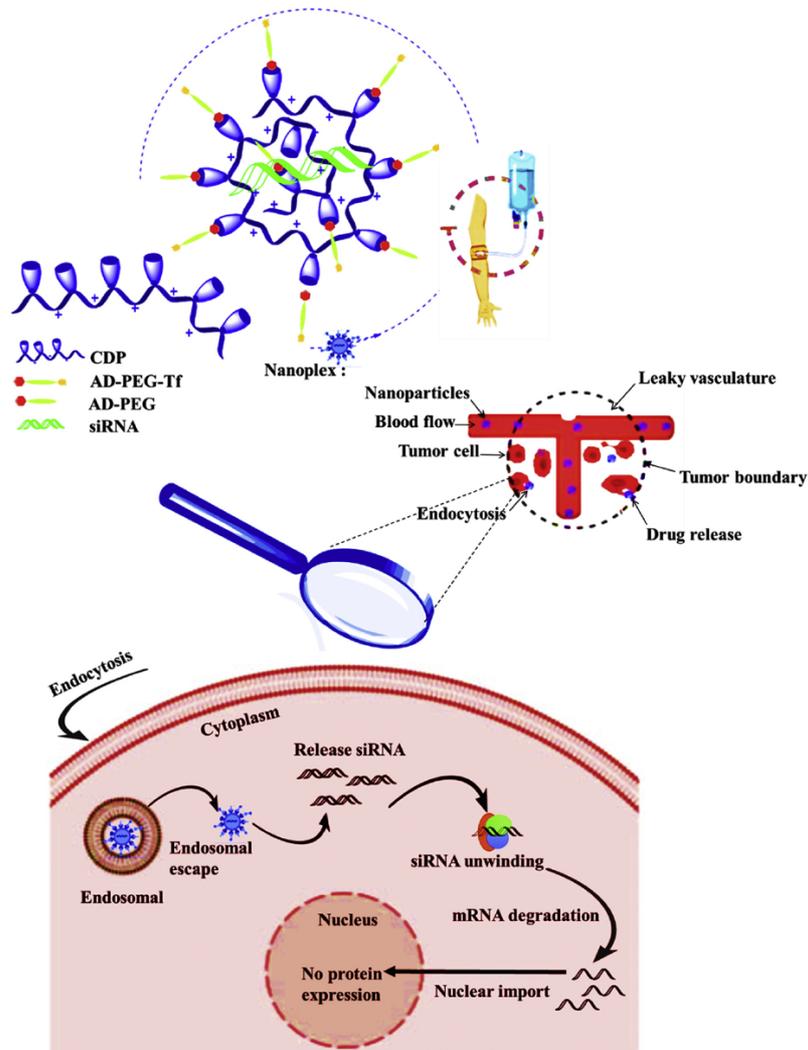


Figura 6. Esquema sobre el diseño de sistemas de transporte y liberación de genes basados en polímeros de CDs⁽²⁴⁾.

Para lograr una liberación dirigida, se pueden incorporar a ligandos específicos que interactúen con receptores de células diana, a la vez que permite desencadenar la liberación de la carga en respuesta a un estímulo, como cambios de pH o estado redox^(8,25). Así se pueden alcanzar máximos efectos terapéuticos evitando la unión no específica a otras células y reduciendo la cantidad de material genético necesario^(7,25). Wen et al, conociendo la versatilidad de las CDs, han diseñado un sistema para la liberación dirigida de material genético basado en la interacción entre un polímero catiónico de β -CDs y un polímero de PEG funcionalizado con adamantilo (Ad)⁽²⁵⁾. Además, se emplea ácido fólico (FA) como ligando del receptor de folato (FR) sobreexpresado en muchos tipos de células tumorales (Figura 7)^(15,22,24-26).

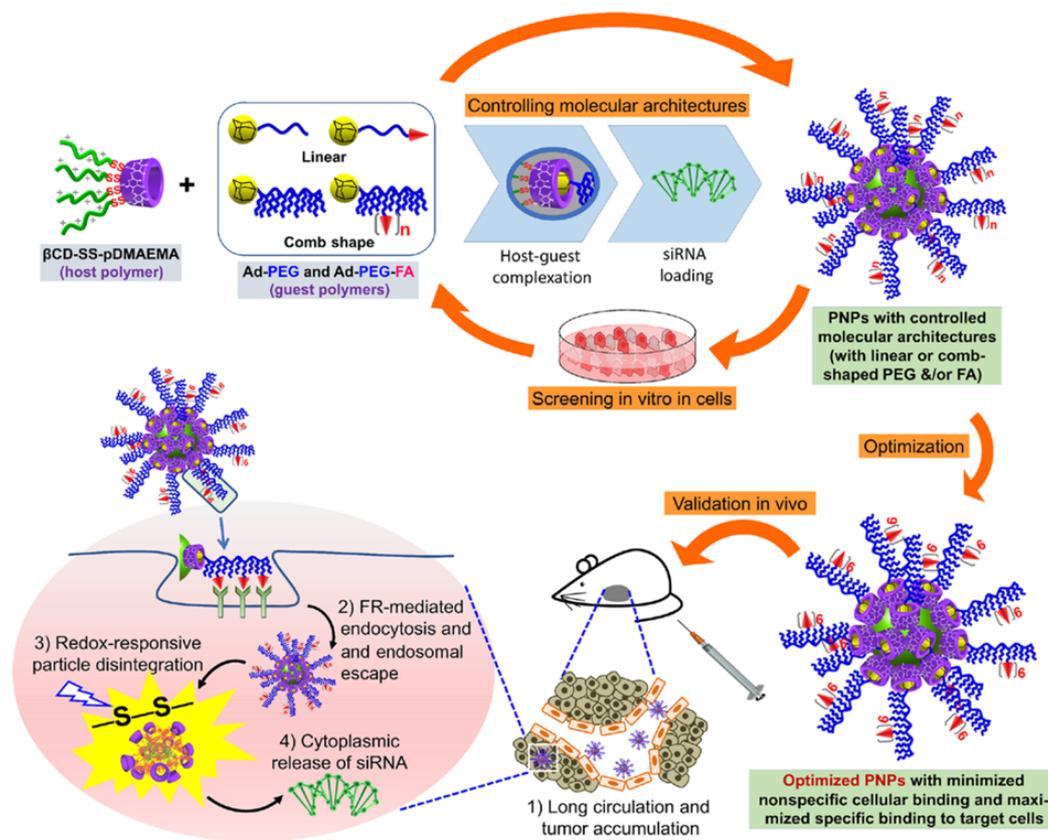


Figura 7. Esquema del sistema de liberación dirigida diseñado por Wen et al⁽²⁵⁾.

Los grupos hidroxilo de las CDs pueden ser funcionalizados incorporando cargas catiónicas formando así CDs policationicas. Estas CDs pueden interactuar electrostáticamente con los ácidos nucleicos y formar nanoestructuras estables autoensambladas que encapsulan y condensan el material genético en su interior^(3,7,15,24). De esta manera, las CDs se encargan del transporte del material genético hasta la célula tumoral diana, mientras que Ad-PEG actúa como capa protectora impidiendo la captación de celular no específica y así prolongar el tiempo de circulación. Por último, FA permite atacar activamente las células tumorales y suprimir eficazmente el crecimiento del tumor⁽²⁵⁾.

4.1.2.1. Aplicación en terapias combinadas.

En los sistemas de transporte no viral la cavidad hidrofóbica de las CDs permanece libre para la incorporación de un segundo agente terapéutico, por lo que pueden ser útiles para el co-transporte y co-liberación dirigida de genes y quimioterapia, inmunomoduladores, citoquinas e incluso proteínas^(5,15,24,26,27).

La terapia combinada de ácidos nucleicos y quimioterapia ayuda a reducir la resistencia adquirida a los tratamientos y las dosis necesarias, permitiendo alcanzar efectos terapéuticos sin llegar niveles tóxicos^(6,15,24). Además, la acción de los fármacos quimioterapéuticos potencian la liberación de la carga génica, evitando la captación del sistema por parte de células inmunes o disgregando el microambiente del tumor aumentando la distribución de la terapia en tumores sólidos^(15,25).

La Figura 8 muestra de forma esquemática el diseño de distintos sistemas de co-liberación basados en polímeros de CDs que han demostrado alta capacidad de transfección, elevado ratio de captación celular e inhibición del crecimiento de la célula tumoral. Asimismo, permiten reducir las dosis necesarias de doxorubicina, lo que logra evitar el aumento de toxicidad y de efectos adversos^(24,27,28).

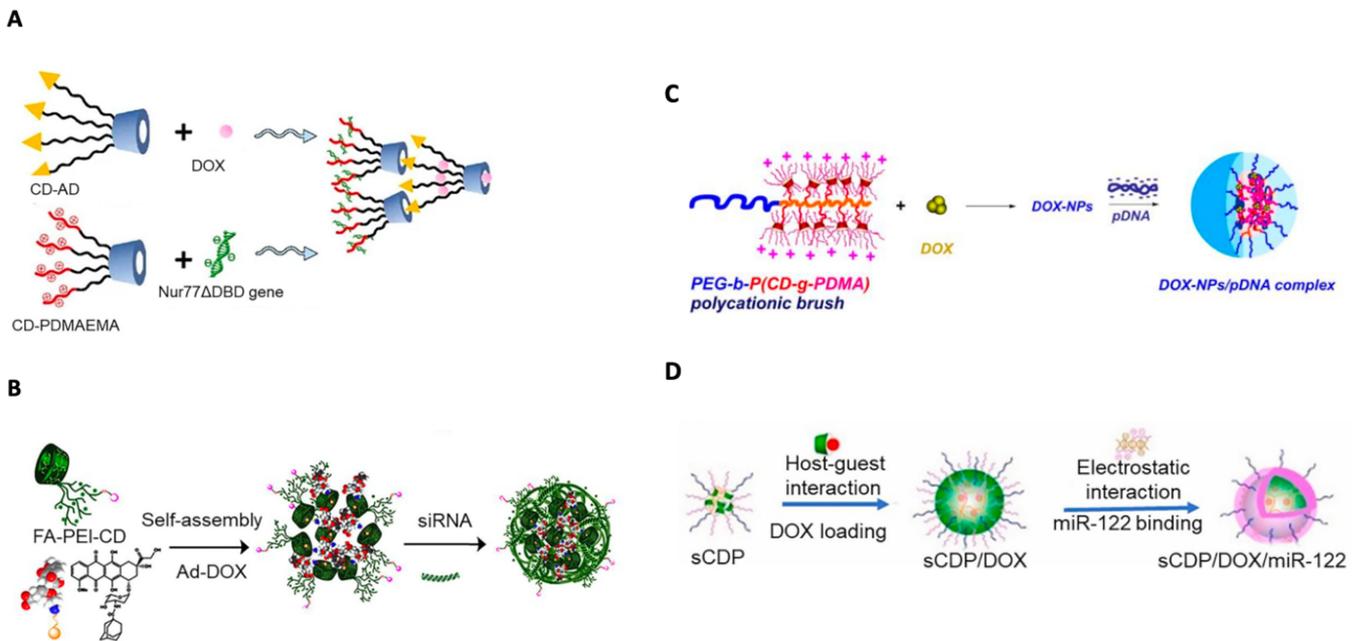


Figura 8. Sistemas de co-liberación de ácidos nucleicos y doxorubicina^(24,27). La doxorubicina (DOX), un agente quimioterápico empleado contra el cáncer de mama y de ovario, entre otros. En estos sistemas DOX es encapsulada en la cavidad hidrofóbica de los polímeros CDs formando nanopartículas que interaccionan con los ácidos nucleicos: (A) gen Nur77ΔDBD, (B) siRNA, (C) pDNA o (D) miR-122, dando lugar a poliplejos que se encargarán del co-transporte y co-liberación de las terapias en el interior de las células diana.

4.2. Aplicaciones como moléculas con actividad terapéutica.

Las CDs son consideradas como excipientes empleados para mejorar la solubilidad y la permeabilidad de fármacos de clase II, según la clasificación BSC^(3,7). Sin embargo,

numerosos grupos de investigación han demostrado presentan por sí mismas actividad terapéutica (Tabla 8)^(8,9,22).

La aplicación farmacológica más destacada de las CDs es la complejación del colesterol⁽⁸⁾. Debido a esta propiedad, en 2013, HP-β-CD fue designada por la EMA como medicamento huérfano para el tratamiento de la enfermedad de Niemann-Pick tipo C (ENP-C), una enfermedad rara donde la ausencia de transportadores provoca la acumulación de lípidos en los lisosomas^(4,11,29,30). HP-β-CD logra ralentizar la progresión de esta enfermedad al movilizar el colesterol favoreciendo su excreción⁽²²⁾.

Tabla 8. Ejemplos de actividad terapéutica de HP-β-CD y RM-β-CD ^(8,9,13,22).

Enfermedad	Ciclodextrina	Actividad de la ciclodextrina estudiada
Leucemia	HP-β-CD	Actúa como anticancerígeno influyendo sobre la autofagia produciendo la inhibición de la proliferación de células leucémicas en varias líneas celulares.
Aterosclerosis	HP-β-CD	<ul style="list-style-type: none"> • Aumenta la solubilidad del colesterol impidiendo su precipitación en forma de cristales de colesterol. • Reduce las placas ateroscleróticas al disminuir los niveles de colesterol. • Estimula la excreción de colesterol. • Reduce la susceptibilidad de LDL a la oxidación, aumenta los niveles de HDL y reduce los niveles sanguíneos de triglicéridos. • Reduce la inflamación mediada por el complemento, lo que resulta en una disminución de la fagocitosis y una menor producción de especies oxígeno reactivas (ROS).
Alzheimer	HP-β-CD	Reduce los depósitos de β-amieloide al prevenir su agregación y disgregación.
Parkinson	RM-β-CD	Compleja alfa-sinucleína previniendo su agregación.
Huntington	HP-β-CD	Reduce los acúmulos de colesterol asociados a la excitotoxicidad por NMDA.

Por otro lado, la pandemia por SARS-CoV-2 ha evidenciado el mayor beneficio del uso antivirales de amplio espectro, por ello numerosos grupos de investigación estudian la posible aplicación de distintos derivados de las β-CDs como moléculas virucidas de amplio espectro, por su capacidad de encapsular el colesterol (Tabla 9)^(11,14,17,23,31,33).

Tabla 9. Breve resumen de los resultados obtenidos al estudiar el efecto de distintos derivados de β -CDs sobre el proceso de infección de diferentes agentes virales.

<i>Agente viral</i>	<i>CD</i>	<i>Resultados de los ensayos</i>
IBV	RM- β -CD	Reducción infectividad al desnaturalizar los <i>lipid rafts</i> ⁽⁹⁾ .
Influenza A (H1N1)	RM- β -CD	Secuestra el colesterol causando la deformación estructural de la membrana viral. Reduce la infectividad y viabilidad de las partículas virales ^(9,11,14) .
DENV, HCV, JEV	RM- β -CD	Secuestra el colesterol de la membrana impidiendo la entrada de los virus a las células diana, por lo que inhibe el ensamblaje intracelular. De esta manera logra reducir el ratio de infectividad ^(9,11) .
VIH, SIV	HP- β -CD	Extrae las moléculas de colesterol de la envuelta de los virus causando su disrupción de la membrana viral, reduciendo así su infectividad. Tras su administración intravaginal HP β CD bloqueó la infección por VIH en un 91% ^(9,11,25) .
Influenza A (H1N1, H3N2, H5N1) y B, HSV-1, HSV-2, DENV, RSV	β -CD-Sulfonada ^a	Acción virucida irreversible asociada a la encapsulación del colesterol de las membranas de la envoltura viral ⁽³¹⁾ .
VSV	β -CD-Sulfonada ^a	Acción virustática reversible al interferir en la unión del virus a la célula ⁽³¹⁾ .
HIV, EVE, ZIKV	β -CD-Sulfonada ^b	Presentan excelente actividad antiviral en niveles de 10 μ m/ml ⁽¹⁷⁾ .
HSV-1, HSV-2 R ACV	β -CD-Sulfonada ^c	Ensayos tiempo dependientes mostraron una significativa reducción de los títulos virales tras 5 minutos y una completa inactivación del virus 15 minutos después. Esto demuestra que inhibe el crecimiento del virus ^(11,32) .

^a síntesis realizada con mercapto-undecano ácido sulfónico; ^b síntesis realizada con per-6-tioalquil ácido sulfónico; ^c síntesis realizada con undec-10-ensulfonato sódico; IBV: virus de bronquitis infecciosa; DENV: virus del dengue; HCV: virus de la hepatitis C; JEV: virus de la encefalitis japonesa; VIH: virus de la inmunodeficiencia humana; SIV: virus de inmunodeficiencia en simios; HSV-1: virus herpes simplex tipo 1; HSV-2: virus herpes simplex tipo 2; RSV: virus respiratorio sincitial; VSV: virus de la estomatitis vesicular; EVE: virus del ébola; ZIKV: virus del zika.

Los virus pueden entrar en la célula diana mediante fusión directa con la membrana o por endocitosis mediada por receptor (Figura 9).^(23,33) Existen agrupaciones de receptores específicos de patógenos en microdominios de la membrana plasmática, denominados *lipid rafts*. Se sospecha que estos microdominios son el primer punto de contacto entre los virus y la célula del hospedador, porque forman plataformas que facilitan la unión de los virus a sus receptores específicos y logrando una mayor infección de las células diana. Asimismo, los virus son capaces de manipular la maquinaria de

autofagia para su propio beneficio: poder evadir al sistema inmune, emplear los autofagosomas como nicho de replicación, promover la replicación viral e incluso inhibir la degradación de los productos virales^(14,23,33).

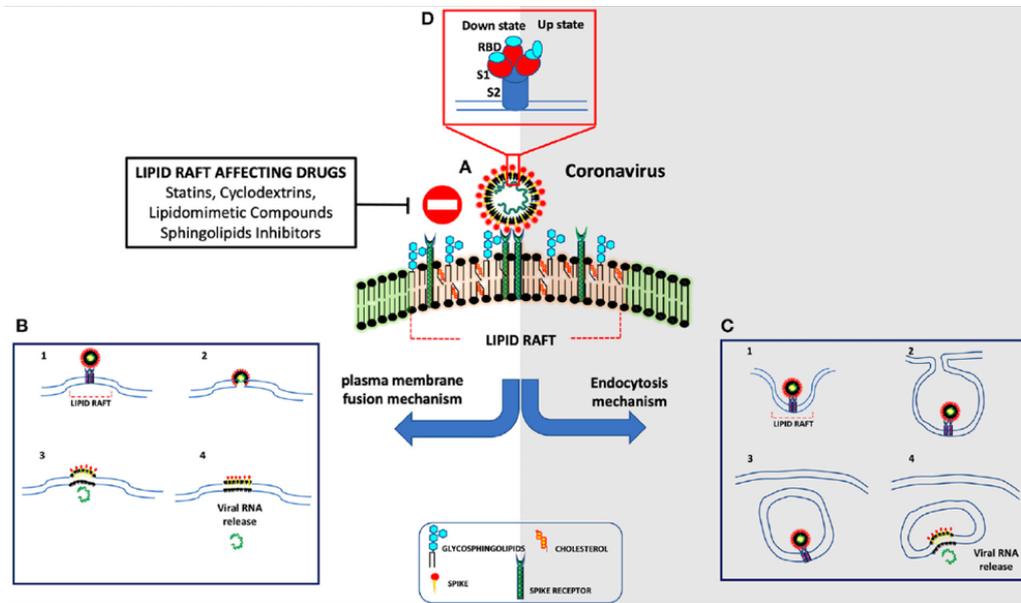


Figura 9. Representación esquemática del papel de los *lipid rafts* en el proceso de infección por coronavirus.⁽²³⁾

El colesterol es uno de los principales componentes de los *lipid rafts* así que la depleción farmacológica de colesterol causaría su disrupción^(14,23,33). Dada su capacidad de encapsular el colesterol, las CDs pueden alterar la estructura de virus con una envoltura rica en colesterol o impedir la entrada de virus cuyos receptores específicos se localicen en estos microdominios^(11,14,33).

Los lipid rafts están involucrados en el ciclo de replicación de diversos agentes infecciosos contra los que se ha estudiado la actividad antiviral de las CDs (Tabla 9)^(9,14,23,33). Entre ellos se encuentra el virus de la gripe, cuyo colesterol de membrana está organizado en dominios enriquecidos en lípidos similares a los lipid rafts^(11,14). Por ello, los derivados de β -CDs, capaces de encapsular el colesterol, pueden romper la interacción de la hemaglutinina (HA) con el receptor de ácido siálico (SA) impidiendo así la unión del virus a las células(Figura 10)⁽¹⁴⁾.

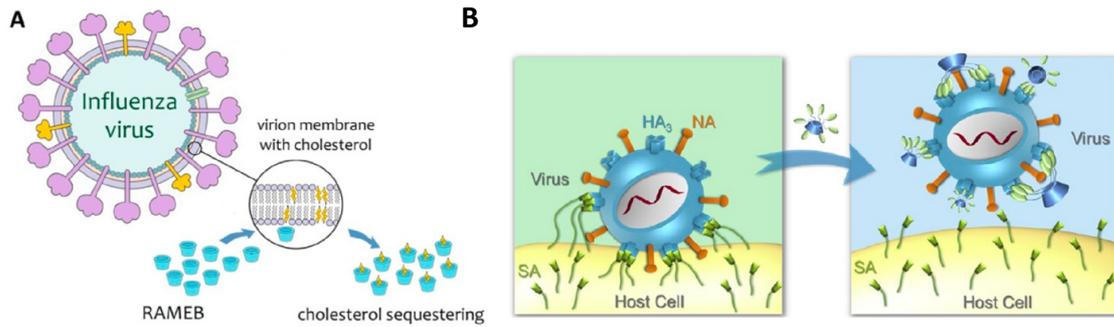


Figura 10. (A) Organización del colesterol en la membrana del virus de la gripe. (B) Mecanismo propuesto para explicar la acción de CDs sobre el mecanismo de entrada a la célula del virus de la gripe⁽¹⁴⁾.

Asimismo, los ensayos llevados a cabo demuestran que HP- β -CD puede reducir la susceptibilidad a las infecciones por HIV pues al deplecionar el colesterol causa la disrupción de la membrana creando poros en la envuelta viral, alterando su estructura y la liberación de proteínas virales; todo ello resulta en una reducción en la infectividad.^(9,23)

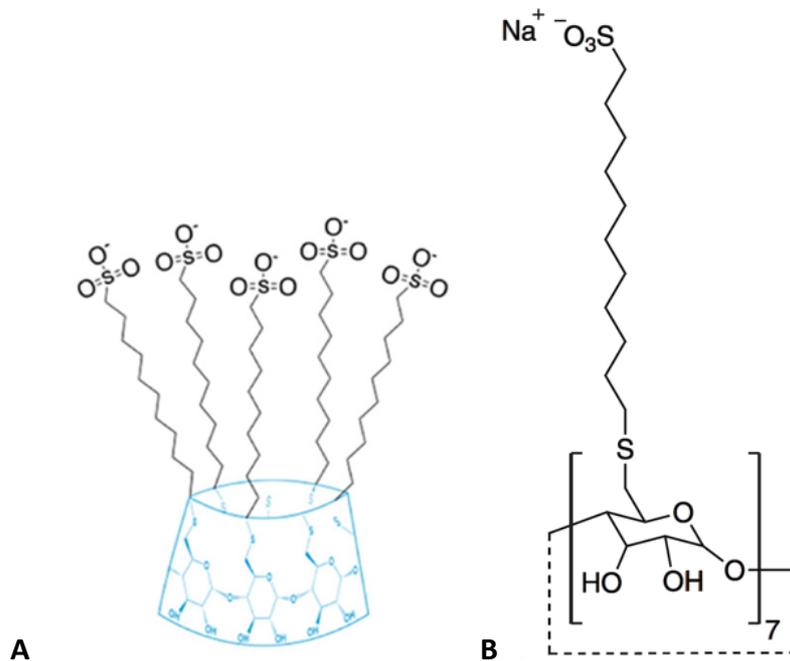


Figura 11. (A) Estructura de CD recubiertas con MUS (mercapto-undecano ácido sulfónico) ensayadas por Cagno et al⁽³¹⁾. (B) Estructura de CD sulfonadas ensayadas por Jones et al⁽³²⁾.

Por otro lado, Jones y Cagno et al han diseñado CDs sulfonadas (Figura 11) que demostraron actividad virucida contra un amplio número de virus heparan-sulfato (HS)

dependientes, en ensayos in vitro, ex vivo y en modelos animales (Tabla 10)^(9,14,31,32). En este caso, se ha propuesto un mecanismo de inhibición basado en la interacción con el lazo de unión de la glicoproteína B produciendo un cambio conformacional y de esta manera bloquean el ataque del virus a la célula del hospedador^(9,32).

Tabla 10. Resultados de los ensayos realizados con CDs sulfonadas frente a virus HS-dependientes^(31,32).

	Virus	EC₅₀ (µg/ml)
<i>Jones et al.</i>	HSV-1	46.9
	HSV-2	26.4
	HSV-2 R ACV	19.8
	HSV-2 clinical	34.3
	RSV-A	9.11
	RSV-B	5.48
	HMPV	0.613
	PIV3	1.198
	HIV	10.19
	DENV-2	14.1
	ZIKV	0.61
	HCV	3.88
	HCV Y93H	6.26
HCV D168A	2.87	
<i>Cagno et al.</i>	VSV	45.4
	H1N1	6.28
	H3N2	17.3
	H5N1	53.2
	Influenza B	13.1

HSV-1: virus herpes simplex tipo 1; HSV-2: virus herpes simplex tipo 2; HSV-2 R ACV: virus herpes simplex tipo 2 aciclovir resistente; RSV-A: virus respiratorio sincitial tipo A; RSV-B: virus respiratorio sincitial tipo B; HMPV: meptaneumovirus humano; PIV3: virus parainfluenza humana tipo 3; HIV: virus inmunodeficiencia humana; DENV-2: virus dengue tipo 2; ZIKV: virus zika; HCV: virus hepatitis C; VSV: virus estomatitis vesicular; H1N1,H3N2,H5N1: virus influenza A; influenza B: virus influenza B.

Las CDs ensayadas muestran actividad virucida de amplio espectro, alta barrera frente a la resistencia viral, biocompatibilidad a concentraciones micromolares y no son

citotóxicas pues no causan toxicidad ni la liberación de citoquinas proinflamatorias^(8,9,14,32).

Teniendo en cuenta, los resultados de los ensayos se han propuesto una serie de prometedoras aplicaciones recogidas en la siguiente tabla:

Tabla 11. Aplicaciones propuestas para CDs con actividad antiviral^(9,11,23,31,32).

- | |
|--|
| <ul style="list-style-type: none">a) Funcionalización superficial de tejidos utilizados como métodos barrera, como mascarillas, pues podrían absorber la partículas víricas e inactivarlas.b) Microbiocidas vaginales para prevenir y tratar infecciones de transmisión sexual como HIV, HPV y HSV-2.c) Terapias combinadas con fármacos antivirales para prevenir el desarrollo de resistencia.d) Uso en enjuagues bucales o nasales contra infecciones por el SARS-CoV-2. |
|--|

5. Conclusiones.

Esta revisión bibliográfica pone en evidencia que el uso de las CDs no está limitado a la mejora de la solubilidad y la permeabilidad de fármacos poco solubles, mediante la formación de complejos de inclusión.

- 1) Para el desarrollo de vacunas con un mejor perfil de seguridad, se estudia el uso de HP- β -CD como adyuvante debido a que es capaz de promover la producción de anticuerpos antígeno-específicos, produce bajos títulos de IgE e induce la respuesta celular Th2, favoreciendo el desarrollo de inmunidad a largo plazo.
- 2) En terapia génica, las CDs catiónicas se emplean, por su habilidad de autoensamblaje, como parte de sistemas de transporte no virales multifuncionales, en los que su incorporación aporta una elevada condensación del material genético así como una mayor eficacia en la transfección, debido a que permiten un transporte y liberación dirigidos y logran mayores tiempos de retención en células diana.
- 3) Gracias a su característica propiedad de secuestrar el colesterol, las CDs sulfonadas causan la deformación de la estructura de la membrana viral y como resultado reducen la infectividad y viabilidad de diversos virus. Por ello, están siendo investigadas para el desarrollo de nuevos agentes antivirales de amplio espectro.

6. Bibliografía.

1. Brieva HM. Fundamentos de Biotecnología farmacéutica [Internet]. Madrid: Dextra Editorial; 2018 [consultado 29 marzo de 2022]. Disponible en: <https://elibro-net.accedys2.bbtk.ull.es/es/ereader/bull/130761?page=21>
2. Khan FA. Biotechnology Fundamentals [Internet] 3ª ed. Boca Raton: CRC Press; 2020 [consultado 23 de marzo de 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1201/9781003024750>
3. Dhiman P, Bhatia M. Pharmaceutical applications of cyclodextrins and their derivatives. J Incl Phenom Macrocycl Chem [Internet]; 2020 [consultado 14 de febrero de 2022] 98 (3-4): 171–186. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10847-020-01029-3>
4. Morin-Crini, N., Fourmentin, S., Fenyvesi, É. et al. 130 years of cyclodextrin discovery for health, food, agriculture, and the industry: a review. Environ Chem Lett [Internet]; 2021 [consultado 20 de febrero de 2022] 19 (3):2581–2617. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01156-w>
5. Pandey A. Cyclodextrin-based nanoparticles for pharmaceutical applications: a review. Environ Chem Lett [Internet]; 2021 [consultado 24 de febrero de 2022] 19 (3): 4297–4310. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01275-y>
6. Lachowicz M, Stańczak A, Kołodziejczyk M. Characteristic of Cyclodextrins: Their Role and Use in the Pharmaceutical Technology. Current Drug Targets. [Internet]; 2020 [consultado 29 de abril de 2022] 21 (14): 1495-1510. Disponible en: <https://doi.org/10.2174/1389450121666200615150039>
7. Jitendra Wankar, Niranjana G. Kotla, Sonia Gera, Swetha Rasala, Abhay Pandit, Yury A. Rochev. Recent Advances in Host–Guest Self-Assembled Cyclodextrin Carriers: Implications for Responsive Drug Delivery and Biomedical Engineering. Adv. Funct. Mater [Internet]; 2020 [consultado 25 de febrero de 2022] 30 (44): 1909049. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/adfm.201909049>
8. Matencio A, Hoti G, Monfared Y, Rezayat A, Pedrazzo A, Caldera F, et al. Cyclodextrin Monomers and Polymers for Drug Activity Enhancement. Polymers [Internet]; 2021 [consultado 5 de abril de 2022] 13 (11): 1684. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/polym13111684>.

9. Matencio A, Caldera F, Cecone C, López-Nicolás JM, Trotta F. Cyclic Oligosaccharides as Active Drugs, an Updated Review. *Pharmaceutics* [Internet]; 2020 [consultado 7 de abril de 2022] 13 (10): 281. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ph13100281>
10. Rey-Rico A, Cucchiaroni M. Supramolecular Cyclodextrin-Based Hydrogels for Controlled Gene Delivery. *Polymers* [Internet]; 2019 [consultado 5 de abril de 2022] 11 (3): 514. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/polym11030514>
11. Braga S, Barbosa J, Santos N, El-Saleh F, Paz F. Cyclodextrins in Antiviral Therapeutics and Vaccines. *Pharmaceutics* [Internet]; 2021 [consultado 29 de marzo de 2022] 13 (3): 409. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13030409>
12. Akbari A, Rahimi F, Radmoghaddam ZA, Honarmand S, Godary T, Tudeshkchouei MG, et al. β -Cyclodextrins-based nano carriers for cancer therapy. *Nano Sci Tec* [Internet]; 2021 [consultado 11 de abril de 2022] 1: 1-11. Disponible en: doi.org/10.52319/j.nanoscitec.2021.a1
13. Crini G, Fenyvesi É, Szente L. Outstanding contribution of Professor József Szejtli to cyclodextrin applications in foods, cosmetics, drugs, chromatography and biotechnology: a review. *Environ Chem Lett* [Internet]; 2021 [consultado 23 de abril de 2022] 19 (3): 2619–2641. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01170-y>
14. Garrido PF, Calvelo M, Blanco-González A, Veleiro U, Suárez F, Conde D, et al. The Lord of the NanoRings: Cyclodextrins and the battle against SARS-CoV-2. *Int J Pharm* [Internet]; 2020 [consultado 5 de abril de 2022] 588 (119689). Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119689>
15. Haley RM, Gottardi R, Langer R, Mitchell MJ. Cyclodextrins in drug delivery: applications in gene and combination therapy. *Drug Deliv Trans Res.* [Internet]; 2020 [consultado 25 de febrero de 2021] 10(3): 661–677. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13346-020-00724-5>
16. European Medicines Agency. [Sede Web] Cyclodextrins used as excipients. Committee for Human Medicinal Products. Amsterdam: EMA; 2017. EMA/CHMP/495747/2013 [consultado 23 de abril de 2022] Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/cyclodextrins>

17. Jicsinszky L, Martina K, Cravotto G. (2021). Cyclodextrins in the antiviral therapy. Journal of drug delivery science and technology [Internet]; 2021 [consultado 25 de febrero de 2022] 64 (102589). Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102589>
18. He M, Zhong C, Hu H, Jin Y, Chen Y, Lou K, et al. Cyclodextrin/chitosan nanoparticles for oral ovalbumin delivery: Preparation, characterization and intestinal mucosal immunity in mice. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences [Internet]; 2019 [consultado 3 de abril de 2022] 14 (2): 193-203. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2018.04.001>
19. Wan Y, Hickey JM, Bird C, Witham K, Fahey P, Forster A, et al. (2018). Development of Stabilizing Formulations of a Trivalent Inactivated Poliovirus Vaccine in a Dried State for Delivery in the Nanopatch™ Microprojection Array. Journal of pharmaceutical sciences [Internet]; 2018 [consultado 27 de marzo de 2022] 107(6): 1540–1551. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2018.01.027>
20. European Medicines Agency. [Sede Web] Jcovden® European Public Assessment Report – Product information. Amsterdam: EMA; 2021. EMEA/H/C/005737 - IA/0049 [actualizado 29 de marzo de 2022; consultado 5 de mayo de 2022] Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/jcovden-previously-covid-19-vaccine-janssen#product-information-section>
21. Li C, Chen C, Wei Y, Tan M, Zhai S, Zhao J, et al. (2021). Cyclodextrin metalorganic framework as vaccine adjuvants enhances immune responses. Drug delivery [Internet]; 2021 [consultado 27 de marzo de 2022] 28 (1): 2594–2602. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/10717544.2021.2012306>
22. Bai H, Wang J, Li Z, Tang G. (2019). Macrocyclic Compounds for Drug and Gene Delivery in Immune-Modulating Therapy. International Journal of Molecular Sciences [Internet]; 2019 [consultado 5 de mayo de 2022] 20 (9): 2097. <https://doi.org/10.3390/ijms20092097>
23. Sorice M, Misasi R, Riitano G, Manganelli V, Martellucci S, Longo A, et al. Garofalo T and Mattei V (2021) Targeting Lipid Rafts as a Strategy Against Coronavirus. Front. Cell Dev. Biol. [Internet]; 2021 [consultado 27 de abril de 2022] 8: 618296. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.618296>

24. Mousazadeh H, Pilehvar-Soltanahmadi Y, Dadashpour M, Zarghami N. Cyclodextrin based natural nanostructured carbohydrate polymers as effective non-viral siRNA delivery systems for cancer gene therapy. *Journal of Controlled Release* [Internet]; 2021 [consultado 10 de febrero de 2022] 330: 1046-1070. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.11.011>.
25. Wen Y, Bai H, Zhu J, Song X, Tang G, Li J. (2020). A supramolecular platform for controlling and optimizing molecular architectures of siRNA targeted delivery vehicles. *Science advances* [Internet]; 2020 [consultado 5 de mayo de 2022] 6(31): eabc2148. Disponible en: <https://doi.org/10.1126/sciadv.abc2148>
26. Yi S, Liao R, Zhao W, Huang Y, He Y. Multifunctional co-transport carriers based on cyclodextrin assembly for cancer synergistic therapy. *Theranostics* [Internet]; 2022 [consultado 15 de abril de 2022] 12 (6): 2560-2579. Disponible en: <https://www.thno.org/v12p2560.htm>
27. Chen W, Zhang M, Shen W, Du B, Yang J, Zhang Q. A Polycationic Brush Mediated Co-Delivery of Doxorubicin and Gene for Combination Therapy. *Polymers* [Internet]; 2019 [consultado 22 de abril de 2022] 11 (1): 60. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/polym11010060>
28. Ke L, Li Z, Fan X, Loh XJ, Cheng H, Wu Y, et al. Cyclodextrin-Based Hybrid Polymeric Complex to Overcome Dual Drug Resistance Mechanisms for Cancer Therapy. *Polymers* [Internet]; 2021 [consultado 5 de mayo de 2022] 13 (8): 1254.
29. European Medicines Agency [Sede Web] Orphan designation for the treatment of Niemann-Pick's disease, type C. Amsterdam: EMA; 2017. EU/3/13/1124 [última actualización 14 de diciembre de 2021; consultado 5 de mayo de 2022] Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/orphan-designations/eu-3-13-1124>
30. Orphanet [Sede Web] Enfermedad de Niemann-Pick tipo C. Zakharova E. [última actualización abril de 2021; consultado 5 de mayo de 2022] Disponible en: <https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease.php?lng=ES>
31. Cagno V, Gasbarri M, Medaglia C, Gomes D, Clement S, Stellacci F, et al. Sulfonated Nanomaterials with Broad-Spectrum Antiviral Activity Extending beyond Heparan Sulfate-Dependent Viruses. *Antimicrobial agents and*

- chemotherapy [Internet]; 2020 [consultado 17 de abril de 2022] 64 (12): e02001-20. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/AAC.02001-20>
32. Jones ST, Cagno V, Janeček M, Ortiz D, Gasilova N, Piret J, et al. (2020). Modified cyclodextrins as broad-spectrum antivirals. *Science advances* [Internet]; 2020 [consultado 17 de abril de 2022] 6 (5): eaax9318. Disponible en: <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax9318>
33. Fecchi K, Anticoli S, Peruzzu D, Iessi E, Gagliardi MC, Matarrese P, et al. Coronavirus Interplay With Lipid Rafts and Autophagy Unveils Promising Therapeutic Targets. *Front Microbiol* [Internet]; 2020 [consultado 2 de abril de 2022] 11: 1821. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01821>