



Encuentro
de JÓVENES
INVESTIGADORES

NANOPARTÍCULAS DE ZEÍNA-CASEÍNA PARA ADMINISTRACIÓN ORAL DE BENZNIDAZOL

Victor Pilicita, Ana Sonzogni, Mariana Allasia, Verónica Gonzalez, Roque Minari

INTEC (UNL-CONICET), Güemes 3450, Santa Fe 3000, Argentina.

Directora: Gonzalez, Veronica

Codirector: Minari, Roque

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: Liberación controlada; Benznidazol, Nanopartículas Zeína-Caseína

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es una enfermedad tropical desatendida causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*. Es endémica en 21 países de América Latina y afecta a aproximadamente 6-7 millones de personas en todo el mundo (Meissner WHO 2010). El benznidazol (BZ) es el fármaco más utilizado para el tratamiento de la enfermedad de Chagas, pero su uso está limitado por sus efectos secundarios que pueden ir desde dolores de cabeza hasta depresión de la médula ósea (Martinez n.d.). Estos efectos secundarios pueden atribuirse a los picos de BZ resultantes de la rápida absorción (~2,93 h en sangre) y eliminación del fármaco (baja biodisponibilidad a lo largo del tiempo) (Lidani et al. 2019). El uso de diferentes plataformas para la liberación controlada de BZ representa un enfoque interesante para abordar estos problemas (Cirqueira et al. 2022). En particular, las nanopartículas (NPs) han ganado una atención significativa para la administración de fármacos dirigida y controlada debido a que pueden llevar el fármaco al sitio específico donde se absorben y minimizar los efectos secundarios.

El uso de NPs a base de zeína ha despertado interés por sus aplicaciones potenciales en el campo biomédico, particularmente en los sistemas de administración de fármacos, ya que es una materia prima de bajo costo y está aprobada para aplicaciones farmacéuticas (Liu et al. 2023). La zeína, la principal proteína del maíz, es insoluble en agua pero soluble en mezclas alcohólicas, lo que facilita la encapsulación de fármacos hidrofóbicos como es el caso del BZ.

Sin embargo, el entorno ácido del estómago puede provocar la liberación prematura de BZ debido a la posible degradación de las nanopartículas, lo que reduce la eficacia. Para hacer frente a este desafío, se desarrolló un sistema de administración de fármacos con recubrimiento entérico para proteger la nanopartícula del entorno ácido del estómago y facilitar su liberación en el intestino. Este sistema consta de NPs de zeína-caseína (BP) recubiertas con Eudragit L100-55 (EU). El EU es insoluble en las condiciones del pH estomacal pero soluble en el pH del intestino delgado (pH>5,5) lo que permite la protección del fármaco en el estómago y su liberación en el intestino.

Título del proyecto: Nuevas Plataformas Poliméricas para su uso en Biotecnología

Instrumento: CAI+D

Año convocatoria: 2020

Organismo financiador: Universidad Nacional del Litoral

Director: L.M. Gugliotta



OBJETIVOS

- Sintetizar BP cargadas con BZ y recubiertas por EU para liberación entérica de BZ.
- Evaluar la estabilidad, sensibilidad al pH y capacidad de liberación controlada del sistema BP:EU en pH gástrico (1,2) e intestinal (6,8).

METODOLOGÍA

Síntesis de BP

Se prepararon biopartículas de zeína-caseína mediante la técnica de precipitación con antisolvente, donde una solución alcohólica de zeína y BZ, denominada “solvente”, es precipitada en una solución acuosa de caseína, que actúa como “antisolvente”. Como se muestra en la Figura 1, el solvente se adicionó lentamente en el antisolvente bajo agitación magnética constante y ultrasonido. Una vez completada la alimentación del solvente, se continuó sonicando durante 10 minutos más para garantizar que la dispersión sea homogénea. Posteriormente, la muestra se liofilizó y almacenó para los ensayos de caracterización.

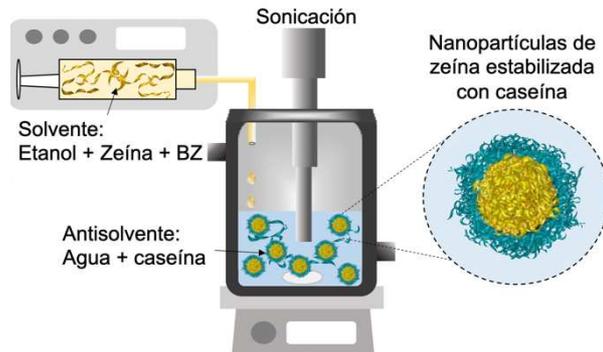


Figura 1. Esquema de síntesis de las BP empleando la técnica de precipitación con antisolvente.

Recubrimiento de BP (BP:EU)

El recubrimiento de BP se realizó por la técnica de precipitación por evaporación de solvente. Una solución alcohólica de EU se goteó lentamente sobre una dispersión de las BP a pH 3 con sonicación, manteniendo condiciones similares a las utilizadas en la síntesis de las BP (Figura 2). Una vez que se completó la adición de la fase EU, se eliminó el etanol mediante evaporación al vacío. La cantidad de fármaco en las biopartículas se calculó por diferencia entre el BZ agregado inicialmente y el que quedó en el sobrenadante.

Caracterización de BP

Se determinó la morfología y el tamaño de las BP por microscopía electrónica de transmisión (TEM) y dispersión de luz dinámica; y el potencial zeta mediante dispersión de luz electroforética.

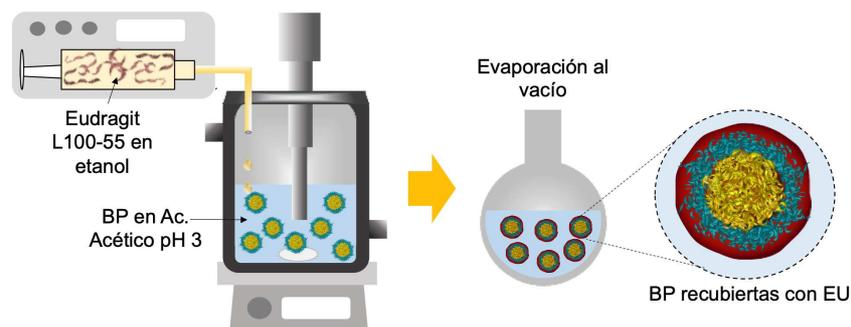


Figura 2. Esquema de síntesis de las BP:EU empleando la técnica por evaporación de solvente.

Liberación de BZ *In vitro*

Los ensayos de liberación *in vitro* se llevaron a cabo a diferentes pH (1,2 y 6,8) para evaluar el perfil de liberación de BZ desde BP y BP:EU. Todos los ensayos de liberación de BZ se realizaron hasta 72 horas.

Los sistemas se incubaron a 37 °C con agitación continua a 400 rpm. Se recogieron muestras a diferentes tiempos relacionados a la permanencia en el estómago (2 h) y en el intestino delgado (2-72 h), y se almacenaron para la posterior cuantificación del contenido de BZ mediante espectrofotometría.

RESULTADOS

En este estudio, se sintetizaron BP cargadas con BZ mediante el método de precipitación de antisolvente, obteniendo un tamaño promedio de 230 nm (Figura 3a). Posteriormente, se realizó el recubrimiento de las BP utilizando precipitación por evaporación del solvente con diferentes proporciones de EU. Las BP:EU resultantes son ovaladas sin límites bien definidos (Figura 3b) y su tamaño final depende de la proporción de EU empleada en el proceso de síntesis (Figura 3c). Además, se observó que el tamaño de las BP:EU varía según el pH del medio, lo cual refleja la sensibilidad esperada del EU.

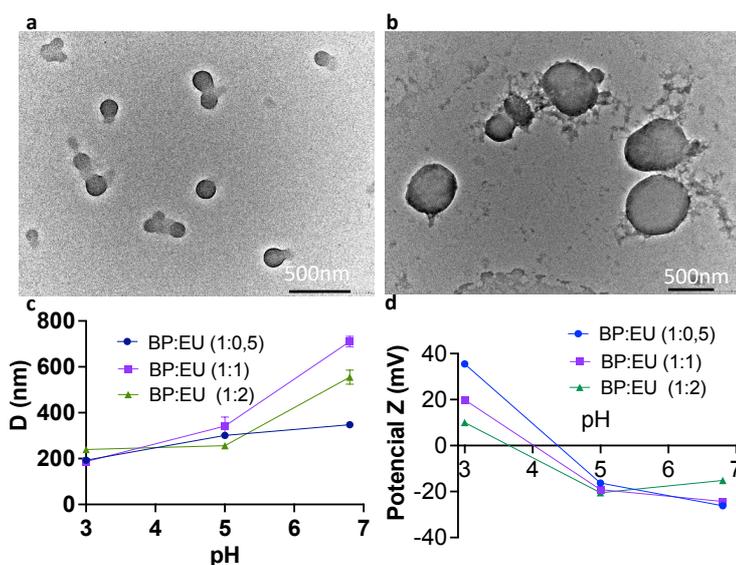


Figura 3. a y b) Imagen TEM de las BP y BP:EU. c y d) diámetro (D) y Potencial Z de las BP:EU incubadas a pH 3, 5 y 7.

A medida que aumenta el pH, el tamaño de las BP:EU también aumenta debido al hinchamiento del EU. El valor del Potencial Z de las BP:EU a diferentes pH indica que las mismas son estables en las condiciones del tracto digestivo (Figura 3d).

Los perfiles de liberación (Figura 4) de BZ en pH 1,2 y 6,8 muestran que las BP:EU presentan una menor liberación de BZ en el medio gástrico en comparación con las BP sin recubrir. En el pH 6,8, las BP:EU liberan menos del 20% de BZ, mientras que las BP sin recubrir liberan aproximadamente el 40% del fármaco. Estos resultados sugieren que el sistema de biopartículas recubiertas con Eudragit L100-55 podría ser una herramienta potencial para la administración controlada y dirigida del benznidazol.

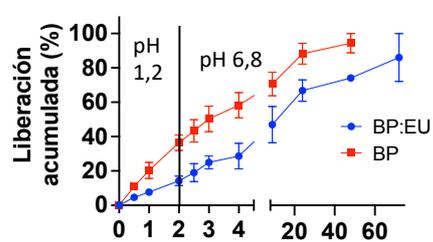


Figura 4. Perfil de liberación de BZ a partir de las BP y BP:EU en pH 1,2 y 6,8 secuencialmente.

CONCLUSIONES

Se sintetizó un sistema de administración oral para el BZ mediante BP recubiertas con EU. El sistema exhibe una liberación controlada del fármaco, lo que podría mejorar la eficacia terapéutica y reducir los efectos secundarios asociados con el tratamiento de la enfermedad de Chagas. Además, se ha demostrado la estabilidad de las BP recubiertas a lo largo del tracto digestivo y su sensibilidad al pH. Estos resultados respaldan la potencial utilidad de este sistema como una estrategia prometedora para la administración oral de BZ en el tratamiento de la enfermedad de Chagas. Sin embargo, se requieren estudios adicionales para evaluar la eficacia *in vivo* y optimizar las propiedades del sistema para su aplicación clínica.

BIBLOGRAFÍA BÁSICA

- Cirqueira, Marília L. et al. 2022. "Trypanosoma Cruzi Nitroreductase: Structural Features and Interaction with Biological Membranes." *International Journal of Biological Macromolecules* 221: 891–99.
- Lidani, Kárita Cláudia Freitas et al. 2019. "Chagas Disease: From Discovery to a Worldwide Health Problem." *Frontiers in Public Health* 7(6): 166. [/pmc/articles/PMC6614205/](https://doi.org/10.3389/fpubh.2019.01661) (January 25, 2023).
- Liu, Guijin, Dongyu An, Junjian Li, and Shiming Deng. 2023. "Zein-Based Nanoparticles: Preparation, Characterization, and Pharmaceutical Application." *Frontiers in Pharmacology* 14: 1120251.
- Martinez, Elmer. "Chagas Disease (Also Known as American Trypanosomiasis)." [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)) (January 23, 2023).
- Meissner WHO, Denis. 2010. "Working to Overcome the Global Impact of Neglected Tropical Diseases Annexe I First WHO Report on Neglected Tropical Diseases."

