

Determinación de la encapsulación de una proteína modelo en nanopartículas poliméricas biodegradables con aplicaciones terapéuticas

Zúñiga-Silva, Y.^{a*}, Viveros-Valdéz, J.E.^a, Castro-Ríos, R.^b, González-Horta, A.C.^a, Chávez-Montes, A.^a

^a Depto. Química, Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L., Ave. Pedro de Alba s/n cruz con Ave. Manuel L. Barragán, San Nicolás de los Garza, N.L., México

^b Depto. Química Analítica, Facultad de Medicina, U.A.N.L., Madero y Dr. Aguirre Pequeño, Col. Mitras Centro s/n, Monterrey, N.L. México.

Correo electrónico: * yzs100@hotmail.com

Palabras clave: nanotecnología, proteínas, fármacos

Introducción

La encapsulación de proteínas en nanopartículas poliméricas biodegradables (NP) y biocompatibles se ha considerado una forma segura de entrega de enzimas y proteínas a sistemas biológicos. Las proteínas y polipéptidos sin protección muestran una vida media corta al ser administrados al organismo, lo que se traduce en la imposibilidad de emplear dicha clase de activos como agentes terapéuticos. Por esa razón, la entrega efectiva de esta familia de fármacos requiere la protección contra el sistema de defensa del organismo que les resulta hostil, principalmente por degradación causada por la acción de proteasas y peptidasas¹.

La encapsulación en nanopartículas poliméricas es una alternativa muy atractiva para superar algunas de estas limitaciones. Las NP de ácido poli (láctico-co-glicólico) (PLGA), se han utilizado ampliamente para la encapsulación de fármacos lipófilos².

El PLGA es uno de los polímeros más estudiados debido a su completa biodegradabilidad y la capacidad de auto-ensamblarse, lo que permite atrapar moléculas pequeñas, como los fármacos, y liberarlos en el cuerpo en un tiempo determinado³. Sin embargo, poco se ha evaluado para fármacos hidrofílicos y macromoléculas, como las proteínas.

Por otro lado, el sistema de entrega de catalasa es un modelo de prueba ideal ya que para estudiar los aspectos clave de la entrega de proteínas por nanoacarreadores ya que fácilmente se evalúa si el proceso de encapsulación no altera su actividad biológica⁴.

En el presente trabajo se estudia la incorporación de catalasa como proteína modelo a NP mediante la técnica de nanoprecipitación modificada.

Parte experimental

Nanopartículas poliméricas: Las nanopartículas fueron preparadas por la técnica modificada de la técnica de nanoprecipitación. Se colocaron 6 mg de PLGA (Sigma-Aldrich ®) en 0.8 mL de acetona, mismos que fueron inyectados en 3 mL de agua bidestilada. Posteriormente se eliminó el disolvente a presión reducida y se llevaron al volumen conocido con agua bidestilada

Incorporación Proteína en NP: Los lotes de NP fueron sometidos a agitación constante a temperatura ambiente por 45 min en presencia de diferentes concentraciones de proteína, probándose relaciones de polímero-catalasa desde 1 mg -10 µg, respectivamente hasta 1 mg - 50 µg.

Caracterización de la nanopartícula: El tamaño de la partícula y el índice de polidispersidad (Polydispersity index, PDI)

fueron determinados por espectroscopia de correlación fotónica (Zetasizer Nano Zs90, Malvern). La morfología de la partícula fue analizada por microscopía de barrido.

Los lotes de NP se centrifugaron 25,000 rpm por 2 h. El sobrenadante resultante se analizó por espectrofotometría para cuantificar por el método de Bradford la catalasa no incorporada, y por método indirecto, determinar el porcentaje de eficiencia de encapsulación.

Resultados y discusión

Se obtuvieron formulaciones de NP con catalasa incorporada. Se caracterizaron por tamaño de partícula, homogeneidad de tamaño, morfología y capacidad de incorporación. Se obtuvieron NP de talla promedio de 140 nm, los lotes preparados presentaron índices de polidispersidad de tamaño inferior a 0.2. Las NP mostraron una morfología esférica. Se pudo determinar la máxima cantidad de activo incorporada manteniendo la mejor eficiencia de encapsulación mediante adsorción. Se encontró permanece un 100% de eficiencia de encapsulación cuando se contempla la incorporación de catalasa a cantidades iguales o inferiores a 30 µg por cada miligramos de polímero empleado.

Conclusiones

Por medio de la técnica de nanoprecipitación es posible la incorporación de proteína a NP de manera sencilla, rápida y con alta repetibilidad con porcentajes de encapsulación de interés en el área terapéutica cercanos al 3 % p/p. La incorporación de proteínas en NP constituye una promesa para la administración de esta clase de fármacos.

Referencias

1. Mozafari, M. R. *Nanocarrier Technologies: Frontiers of nanotherapy*. Editorial Springer. **2006**. 145-147
2. Stecanella, L. A.; Taveira, S. F.; Marreto, R. N.; Valadares, M. C.; Vieira, M. S.; Kato, M. J.; Lima, E. M. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. **2012**. 23. 153-159.
3. Locatelli, E.; Franchini, M. C. *J Nanopart Res*. **2012**. 14:1316 DOI 10.1007/s11051-012-1316-4
4. Thassu, D.; Deleers, M.; Pathak, Y.V. *Drugs and the pharmaceutical sciences*, 166.196-199.