



El tratamiento de *Trichomonas vaginalis* con los compuestos A4 y D4, y la posibilidad de un hidrogel termorreversible con nanopartículas poliméricas para su liberación

Marisol Castillo Leyva¹, Claudia G. Benítez Cardoza¹, Adriana Ganem Rondero²

¹ Laboratorio de Investigación Bioquímica de la ENMyH del Instituto Politécnico Nacional

² Laboratorio de Investigación y Posgrado en Tecnología Farmacéutica (L-322)

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

qfb.marisolcal@hotmail.com

cbenitezc@ipn.mx

ganemq@hotmail.com

Resumen

La tricomoniasis, causada por el parásito protozoario *Trichomonas vaginalis*, es la infección de transmisión sexual (ITS) de origen no viral de mayor incidencia y prevalencia a nivel mundial (1). La tricomoniasis no es una enfermedad mortal, pero tiene serias consecuencias, afectando la salud reproductiva de quien la padece, ya que disminuye la fertilidad, provoca partos prematuros y bajo peso al nacer; también puede provocar discapacidad intelectual en los bebés nacidos de madres contagiadas. También se ha reportado que favorece el contagio de otras ITS, como la de los virus del Sida y del papiloma humano, y predispone al cáncer cervicouterino y de próstata (2,3).

El tratamiento contra la tricomoniasis, actualmente y desde hace más de cinco décadas, consiste en el suministro de nitroimidazoles, generalmente metronidazol y tinidazol (todos con el mismo mecanismo de acción). Se ha detectado en la práctica clínica que muchos pacientes que reciben estos fármacos no presentan mejoría y, hasta la fecha, no hay alternativas terapéuticas. La resistencia de los parásitos a los medicamentos usados hasta el momento va en aumento (1). Además de la ineficacia terapéutica, los derivados del nitroimidazol generan diversos efectos secundarios adversos y se ha demostrado que tienen un alto potencial carcinogénico. Esto pone de manifiesto la necesidad de contar con nuevos fármacos contra esta ITS (2,3).

Ante la demanda de la invención de nuevos fármacos anti-tricomonas, nuestro grupo de trabajo previamente identificó dos compuestos con alto potencial, denominados A4 y D4 (4), con los cuales se está trabajando en la formulación de nanopartículas poliméricas cargadas con estos compuestos que serán integradas en un hidrogel termorreversible de administración vaginal. Se busca que esta opción terapéutica de aplicación tópica disminuya los efectos sistémicos no deseados, presente una eficacia del tratamiento a nivel local en pacientes femeninas, asegure la concentración del fármaco requerida en el sitio de acción y con todo ello se pueda proponer una alternativa a los fármacos convencionales contra la tricomoniasis.

Introducción

La tricomoniasis es una ITS causada por el parásito protista *Trichomonas vaginalis*. La Organización Mundial de la Salud estima que cada año entre 160 y 280 millones de personas en edad reproductiva se infectan por tricomoniasis. En la mayoría de los países, incluyendo México, esta enfermedad no se encuentra vigilada epidemiológicamente, por lo que los casos reportados pueden estar considerablemente subestimados. Su distribución es cosmopolita; afecta principalmente a personas con vida sexual activa, en un rango de 25-45 años y tiene un periodo de incubación de 4 a 28 días. La infección es asintomática, mayoritariamente en los hombres (70-80 %), pero también en las mujeres (al menos 50 %) (6). En las mujeres puede ocasionar vaginitis con dolor y ardor en la zona, un flujo amarillento-verdoso espumoso y con mal olor, así como el característico cérvix de fresa. Mientras que los hombres pueden presentar dolor testicular, secreciones e infecciones uretrales (7,8).

La importancia de esta infección radica en que afecta tanto la vida sexual como reproductiva de los pacientes, debido a la alta susceptibilidad que ocasiona a padecer infecciones por VIH o VPH (9,3), así como aumentar el riesgo a padecer algunos tipos de cáncer, como el de próstata y de cuello uterino (10-12). Asimismo, afecta la salud de su descendencia, causando partos prematuros y bajo peso al nacer; también se ha asociado con abortos e infertilidad (2,8). En cuanto al tratamiento, se administran nitroimidazoles y sus derivados. El aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos en Estados Unidos (FDA) es el metronidazol (MTZ) a una dosis única de 2 g (13). No obstante, en años recientes se han presentado cepas resistentes a estos fármacos en 5 y hasta un 20 % de los pacientes (14,15). Además de aquellos que son alérgicos a estos. Asimismo, el fracaso del tratamiento con MTZ oral es debido a sus efectos secundarios como son: náuseas y vómitos, exantema, neutropenia intermitente y trastornos gastrointestinales, que, si bien son temporales y desaparecen después del tratamiento, promueve que el paciente no culmine el mismo (7).

Fármacos en nanopartículas poliméricas

Por su parte, en los últimos 20 años se han estudiado sistemas de administración de fármacos basados en nanotecnología para el tratamiento vaginal tópico (Figura 1) (16). La investigación se ha centrado principalmente en la obtención de micropartículas y nanopartículas (NPs) que porten un fármaco, ya que, de esta forma, es posible protegerlos del daño por la luz o de los agentes oxidantes, en otros casos enmascarar olores o sabores desagradables y modular la liberación del principio activo.

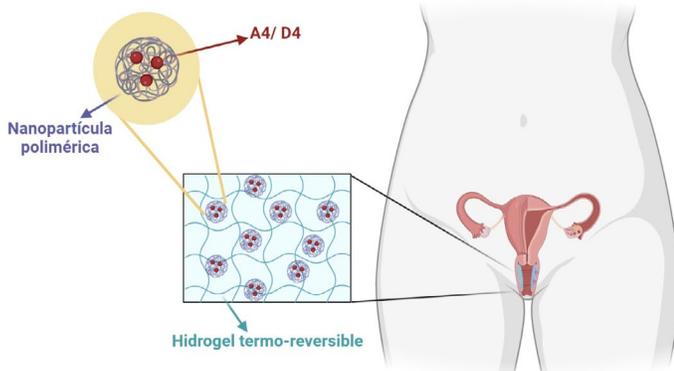


Figura 1 Estrategias nanotecnológicas para abordar problemas emergentes en la salud reproductiva femenina

Como resultado se han desarrollado, entre otras, nanopartículas poliméricas. Estas son partículas coloidales que pueden ser sintetizadas por procesos mecánicos o químicos. Respecto al tamaño, se encuentran en un intervalo de 50 a 600 nm, que se considera farmacéuticamente aceptable (16). Estas NPs están formadas por polímeros naturales o sintéticos, dentro de los primeros están las proteínas como colágena y albúmina, o bien polisacáridos, como alginato, quitosano, agarosa, etcétera. Los biopolímeros destacan por ser biodegradables, algunos biocompatibles o que no generan inmunogenicidad, pero pueden también presentar inconvenientes debido a que algunos requieren de excipientes tóxicos en su elaboración, la incertidumbre en sus fuentes, el grado de pureza y su potencial antigénico (16).

Hidrogel termosensibles o termo-reversibles

Dentro de las formas farmacéuticas semi-sólidas, los hidrogel termo-reversibles se utilizan ampliamente para el tratamiento de infecciones vaginales. Son una subclase de hidrogel que pueden sufrir una transición de solución a gel, porque están constituidos por polímeros con partes hidrofílicas e hidrofóbicas (Figura 2). Más allá de cierta

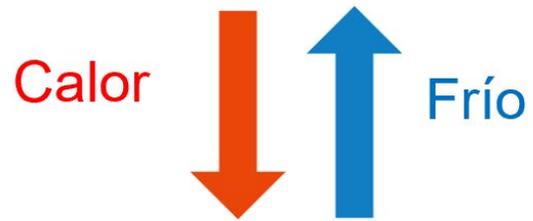


Figura 2 Hidrogel termo-reversible. Adaptado de: Zhang, K. et al., 2021 (18)

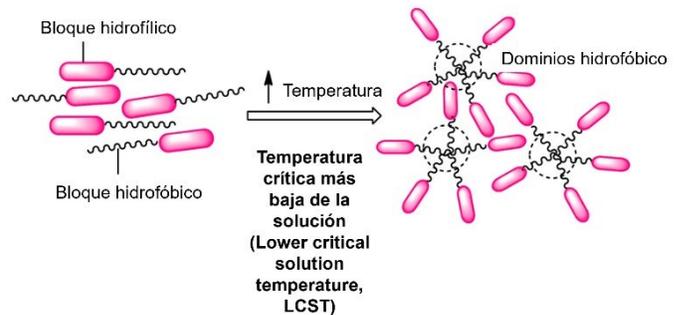


Figura 3 Formación de hidrogel de Poli(ácido láctico) a través de la interacción hidrofóbica

temperatura, se separan de la solución y se solidifican, y este umbral se define como la temperatura crítica inferior de la solución (LCST, por sus siglas en inglés) (Figura 3) (17,18).

Sus ventajas en la administración tópica es que evitan el efecto del metabolismo hepático y el paso por el tracto gastrointestinal. Asimismo, debido a su transición de solución a gel que se induce al entrar en contacto con la temperatura corporal, se logra una capacidad adecuada de esparcimiento y presentan un mayor tiempo de acción terapéutica, ya que conjuntamente se aumenta el tiempo de residencia de la formulación sobre la mucosa (19,20).

Compuestos tricomonocidas A4 y D4

En la búsqueda de nuevos fármacos anti-tricomonas, Benítez-Cardoza, C. G. y colaboradores (4) realizaron un estudio donde buscaron en la biblioteca química de ChemBridge compuestos que interactuaran con la enzima triosa-fosfato isomerasa, ya que estudios previos demostraron su función pluriempleo al actuar como un factor de virulencia en la superficie del parásito (21). Así se logró identificar los compuestos tricomonocidas denominados A4 y D4, que son derivados de la fenil-cromenona y pirimidinona respectivamente (Figura 4 y 5). Estos compuestos, cuyo uso tricomonocida está patentado, presentan una concentración inhibitoria (IC) 50 de 47 μM y de 153 μM (4), respectivamente. También se evaluaron en conjunto, demostrando sinergismo y una IC5075 % menor a la requerida de manera individual, de 12 μM A4- 38 μM D4 (4).

Para complementar estos resultados se hicieron pruebas de toxicidad donde no se observaron efectos mutagénicos o citotó-

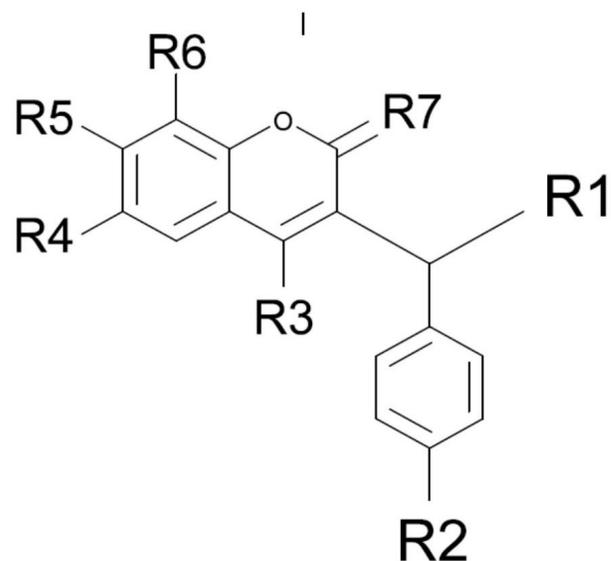


Figura 4 Compuesto derivado de fenil-cromenona: A4

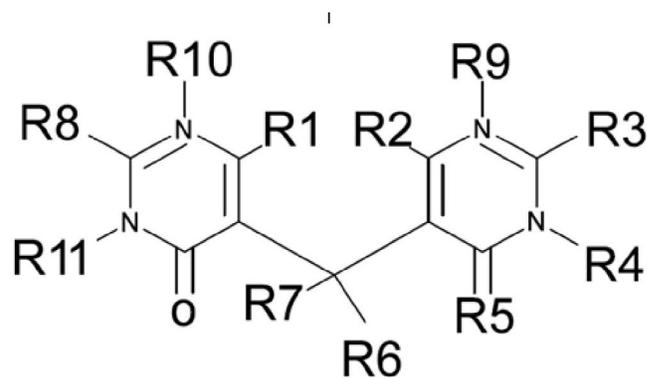


Figura 5 Compuesto derivado de pirimidinona: D4

xicos. Los investigadores también concluyeron que no se descarta la posibilidad de que A4-D4 también puedan interactuar con otras moléculas de la superficie del trofozoíto.

Hidrogel termo-reversible con NPs de proteína vegetal cargadas con A4, D4

Para la formulación de nuestras NPs poliméricas, se eligió una proteína de origen vegetal y un polietenol como estabilizante. En un estudio previo, dichas nanopartículas lograron cargar ácido retinoico destinado para el tratamiento de lesiones y regeneración de la piel (22). Las ventajas de recubrir las NPs con un polietenol es que son esta-

bles en suspensión durante más tiempo respecto a las NPs que no están recubiertas, además de ser muco-adhesivas, lo cual es indispensable en formulaciones de aplicación vaginal.

Además, el gel termo-reversible se elabora utilizando como base poloxámeros, estos son copolímeros sintéticos formados por unidades de poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno) (PEO-PPO-PEO). Son un excipiente aprobado por la FDA en Estados Unidos, así como por las Farmacopeas estadounidenses y europeas. Las unidades de PEO son hidrofílicas y las de PPO son hidrofóbicas, debido a esto, en un medio acuoso y con un incremento de temperatura ocurre un proceso de micelización, donde las unidades de PEO se hidratan e hinchan, quedando hacia el exterior, mientras que las unidades de PPO se deshidratan, quedando en el interior de la micela esférica formada (Figura 6) (23-25). Su uso en formulaciones vaginales brinda bioadhesión, promueve la liberación controlada de las NPs y por lo tanto del fármaco, y facilitan la penetración en la mucosa vaginal (16).

Conclusiones

El empleo de la nanotecnología en el desarrollo de nuevos fármacos anti-tricomonas es un tema en auge durante los últimos años. El reciente descubrimiento de los compuestos A4 y D4 permite tener una alternativa a los fármacos convencionales. El hidrogel termo-reversible con NPs cargadas con A4, D4 o su combinación, podrían ser alternativas al sistema de administración de fármacos existente para el tratamiento de la tricomoniasis.

Referencias

1. Leherker, M.W. & J. F. Alderete. "Biology of trichomonosis." *Current opinion in infectious diseases*,13 (2000) : 37-45. doi :10.1097/00001432-200002000-00007
2. Van Der Pol B. "Clinical and Laboratory Testing for Trichomonas vaginalis Infection". *Journal of clinical microbiology*, 54 (2016) : 7–12. doi :10.1128/JCM.02025-15
3. Hernández, H. Sariego, I. & J. Sarracent. "Infección humana por Trichomonas vaginalis y su relación con otros agentes patógenos". *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología*, 35 (2009): 108-117.
4. Benítez-Cardoza, C. G., Brieba, L. G., Arroyo, R., Rojo-Domínguez, A., & Vique-Sánchez, J. L. "Synergistic effect of compounds directed to triosephosphate isomerase, a combination to develop drug against trichomoniasis". *Archiv der Pharmazie*, 355 (2022): e2200046. doi:10.1002/ardp.202200046.
5. Boletín Epidemiológico. Dirección General de Epidemiología. 39 (2022): 31. Recuperado a partir de chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/792216/sem52.pdf
6. OPS. (s.f.). Tricomoniasis. Obtenido de <https://www.paho.org/es/temas/tricomoniasis>
7. Bouchemal, K., Bories, C., & Loiseau, P. M. "Strategies for Prevention and Treatment of Trichomonas vaginalis Infections". *Clinical microbiology reviews*, 30 (2017) : 811–825. doi :10.1128/CMR.00109-16
8. Schumann, J. A., & Plasner, S. Trichomoniasis. In StatPearls. StatPearls Publishing. 2022.
9. Masha, S. C., Cools, P., Sanders, E. J., Vaneechoutte, M., & Crucitti, T. "Trichomonas vaginalis and HIV infection acquisition : A systematic review and meta-analysis". *Sexually Transmitted Infections*, 95 (2019): 36–42. doi:10.1136/sextrans-2018-053713
10. Siegel, R., Naishadham, D. & Jemal A. "Estadísticas del cáncer, 2012". CA: A Cancer Journal for Clinicians, 62 (2012): 10–29.
11. Donders, G. G., Depuydt, C. E., Bogers, J. P., & Vereecken, A. J. "Association of Trichomonas vaginalis and cytological abnormalities of the cervix in low risk women". *PloS one*, 8 (2013) : e86266. doi:10.1371/journal.pone.0086266
12. Afzan, M. Y., & Suresh, K. "Pseudocyst forms of Trichomonas vaginalis from cervical neoplasia". *Parasitology research*, 111 (2012): 371–381. doi:10.1007/s00436-012-2848-3
13. Workowski, K. A., Bolan, G. A., & Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *MMWR. Recommendations and reports: Morbidity and mortality weekly report. Recommendations and reports*, 64 (2015) : 1–137.
14. Cudmore, S. L., Delgaty, K. L., Hayward-McClelland, S. F., Petrin, D. P., & Garber, G. E. "Treatment of infections caused by metronidazoleresistant Trichomonas vaginalis". *Clinical Microbiology Reviews*, 17 (2004): 783– 93.
15. Vázquez, F., García, M., Pérez F. & V. Palacio. "Trichomonas vaginalis: tratamiento y resistencia a nitroimidazoles" *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 19 (2001): 114–124.
16. Leyva-Gómez, G., Piñón-Segundo, E., Mendoza-Muñoz, N., Zambrano-Zaragoza, M. L., Mendoza-Elvira, S., & Quinta-

- nar-Guerrero, D. "Approaches in Polymeric Nanoparticles for Vaginal Drug Delivery: A Review of the State of the Art". *International journal of molecular sciences*, 19 (2018): 1549. doi :10.3390/ijms19061549
17. Munim, S.A., Raza, Z.A. "Poly(lactic acid) based hydrogels: formation, characteristics and biomedical applications". *Journal of Porous Materials*, 26 (2019) ; 881–901. doi :10.1007/s10934-018-0687-z
18. Zhang, K., Xue, K., & Loh, X. J. "Thermo-Responsive Hydrogels: From Recent Progress to Biomedical Applications". *Gels* (Basel, Switzerland), 7 (2021) : 77. doi:10.3390/gels7030077
19. Klouda, L., & Mikos, A. G. "Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications". *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics: official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V*, 68 (2008): 34–45. doi: 10.1016/j.ejpb.2007.02.025
20. Pardeshi, S., Damiri, F., Zehravi, M., Joshi, R., Kapare, H., Prajapati, M. K., Munot, N., Berrada, M., Giram, P. S., Rojekar, S., Ali, F., Rahman, M. H., & Barai, H. R. "Functional Thermoresponsive Hydrogel Molecule to Material Design for Biomedical Applications". *Polymers*, 14 (2022) : 3126. doi :10.3390/polym14153126
21. Miranda-Ozuna, J. F., Hernández-García, M. S., Briebe, L. G., Benítez-Cardoza, C. G., Ortega-López, J., González-Robles, A., & Arroyo, R. "The Glycolytic Enzyme Triosephosphate Isomerase of *Trichomonas vaginalis* Is a Surface-Associated Protein Induced by Glucose That Functions as a Laminin- and Fibronectin-Binding Protein". *Infection and immunity*, 84 (2016): 2878–2894. doi: 10.1128/IAI.00538-16
22. Molina-Alejandre, O. Desarrollo de un sistema nanoparticulado conteniendo ácido retinoico, destinado a la regeneración de piel dañada. 2021. https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000812164
23. T. Gratieri, G.M. Gelfuso, E.M. Rocha, V.H. Sarmento, O. de Freitas, R.F.V. Lopez "A poloxamer/chitosan in situ forming gel with prolonged retention time for ocular delivery". *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 75 (2010): 186-193. doi: 10.1016/j.ejpb.2010.02.011
24. A.V. Kabanov, E.V. Batrakova, V.Y. Alakhov. "Pluronic® block copolymers for overcoming drug resistance in cancer". *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54 (2002) : 759-779. doi :10.1016/S0169-409X(02)00047-9
25. Pelegrino, M. T., de Araújo, D. R., & Seabra, A. B. "S-nitrosoglutathione-containing chitosan nanoparticles dispersed in Pluronic F-127 hydrogel: Potential uses in topical applications". *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 43 (2018): 211–220. doi: 10.1016/j.jddst.2017.10.016
26. Carvalho, G. C., Araujo, V. H. S., Fonseca-Santos, B., de Araújo, J. T. C., de Souza, M. P. C., Duarte, J. L., & Chorilli, M. "Highlights in poloxamer-based drug delivery systems as strategy at local application for vaginal infections". *International journal of pharmaceutics*, 602 (2021) : 120635. doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.120635