



FACULTAD DE FARMACIA



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

NANOPARTÍCULAS COMO TRANSPORTADORES DE FÁRMACOS A TRAVÉS DE LA PIEL



Gema Latorre Cordero



UNIVERSIDAD DE SEVILLA



FACULTAD DE FARMACIA

TRABAJO FIN DE GRADO
GRADO EN FARMACIA

NANOPARTÍCULAS COMO TRANSPORTADORES DE FÁRMACOS A TRAVÉS DE LA PIEL

Trabajo Fin de Grado de carácter bibliográfico presentado por

Gema Latorre Cordero

Tutores: Dr. Manuel Bueno Martínez y Dra. Inmaculada Molina Pinilla

Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica

Sevilla, septiembre de 2019

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	2
2. INTRODUCCIÓN.....	3
2.1. La piel como barrera	3
2.1.1. Anexos de la piel.....	4
2.2. Liberación tópica y transdérmica a través de la piel.....	4
2.3. Métodos para aumentar la penetración activa y pasiva.....	6
2.3.1. Difusión pasiva	8
2.3.2. Difusión activa	9
2.4. Sistemas de aplicación tópica basados en nanopartículas poliméricas	10
2.5. Métodos de preparación de nanopartículas poliméricas	11
2.6. Polímeros empleados en la preparación de nanopartículas poliméricas	12
2.6.1. Nanopartículas compuestas de polímero natural	12
2.6.2. Nanopartículas compuestas de polímero sintético	13
2.7. Penetración de nanopartículas en la piel	13
3. OBJETIVOS	14
4. METODOLOGÍA	14
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
5.1. Sistemas de aplicación tópica basados en nanopartículas poliméricas	16
5.2. Métodos de preparación de nanopartículas poliméricas.....	16
5.2.1. A partir de la dispersión de un polímero preformado.....	16
5.2.2. Nanopartículas obtenidas por polimerización de monómeros.....	19
5.3. Polímeros empleados en la preparación de nanopartículas	21
5.3.1. Polímeros de origen natural	21
5.3.2. Polímeros de origen sintético	25
6. CONCLUSIONES	30
7. BIBLIOGRAFÍA	31

1. RESUMEN

La vía tópica es única, y nos ofrece atractivas ventajas en la aplicación farmacológica, especialmente en afecciones de la piel. Sin embargo, también presenta ciertas limitaciones al actuar como barrera de numerosas sustancias, dificultando la eficacia del tratamiento tópico en las formulaciones convencionales. En los últimos años, se ha ampliado la investigación en el ámbito de las nanopartículas (NPs), cuyo potencial para los nuevos tratamientos tópicos reside además de en su tamaño nanométrico, en la variedad de materiales poliméricos disponibles para su fabricación, éstos a su vez con numerosas posibilidades de modificación, permitiendo ajustar el tratamiento a las necesidades clínicas aumentando así la eficacia terapéutica y reduciendo sus efectos adversos. Con diferentes morfologías y tamaños, estos nanoportadores pueden utilizarse para portar fármacos tanto hidrófobos como hidrófilos y ser modificados para obtener una liberación controlada del fármaco y una acción dirigida.

A lo largo de éste trabajo de revisión se explican las principales características anatómicas de la piel para obtener una visión general de las vías de permeación que debe atravesar el fármaco para llegar al sitio de acción así como los métodos para mejorar la penetración activa y pasiva. Nos centraremos en los materiales poliméricos, presentando los principales métodos de elaboración de NPs de este tipo, además de abordar los aspectos más importantes sobre los polímeros con potencial uso en los nuevos tratamientos tópicos, sus características fisicoquímicas y estudios realizados con diferentes principios activos cargados, ofreciendo por último, una visión general del mecanismo de permeación de estos sistemas de tamaño nanométrico.

Los resultados obtenidos en las investigaciones nos proporcionan pruebas significativas de que ésta área de investigación tiene y seguirá teniendo un gran impacto en el desarrollo de nuevas formulaciones, mejorando notablemente la calidad de vida de pacientes que sufren afecciones cutáneas.

Palabras clave: nanopartículas, piel, polímeros, tratamiento tópico.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 La piel como barrera

La piel es el órgano más extenso, con una alta capacidad regeneradora y diversas funciones, como almacén de agua y grasa, regulación de la temperatura corporal, barrera contra bacterias o tóxicos y órgano sensorial, su principal función. Es de gran importancia entender la estructura de la piel, la cual la podemos dividir principalmente, en dos capas: epidermis y dermis.

La **epidermis** es el estrato pluricelular que recubre la parte más superficial del cuerpo, no vascularizada y compuesta principalmente por queratinocitos, siendo ésta la primera barrera física para la penetración de sustancias. Esta capa también contiene melanocitos, células de Langerhans y células de Merkel. Según la región de la piel, puede estar compuesta por 5 capas o estratos (Figura 1): *stratum corneum* (capa córnea), *stratum lucidum* (estrato lúcido), *stratum granulosum* (estrato granuloso), *stratum spinosum* (estrato espinoso) y *stratum basale/germinativum* (estrato basal o germinativo). Al conjunto de la capa basal y espinosa se emplea la denominación "*stratum malpighi*" (capa de Malpighi).

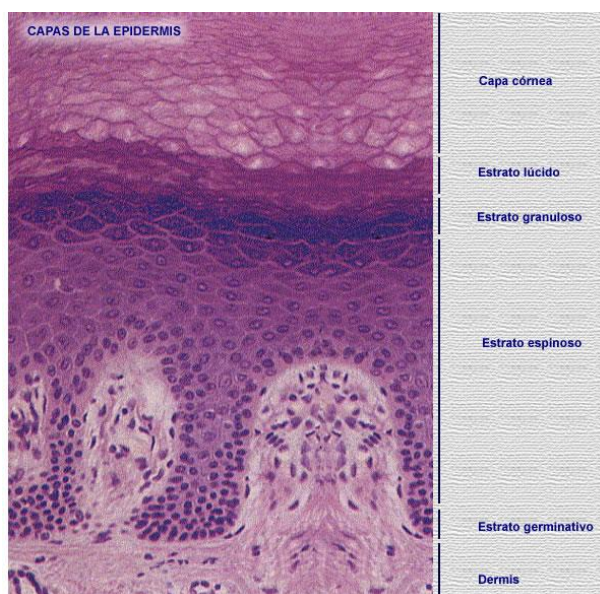


Figura 1. Distribución de las células de la epidermis en capas o estratos.

Desde la capa córnea hasta el estrato granular se crea una capa altamente hidrofóbica que impide el transporte pasivo de principios activos por encima de 500 kDa. La capa córnea suele tener un grosor comprendido entre 15-20 μm , convirtiéndose en la barrera más limitante de la velocidad de difusión de fármacos. (Carter et al., 2019)

La **dermis** es la capa de tejido conjuntivo situada debajo de la epidermis. Está vascularizada e inervada, por lo que los fármacos que se difunden al tejido subcutáneo,

alcanzarán la circulación sistémica en diferentes concentraciones, a través de su circulación capilar (Figura 2). El grosor de esta capa oscila entre 1000µm y 2000µm. (Carter et al., 2019) Constituida principalmente por colágeno, es la responsable de la variación en el grosor de la piel dependiendo de la región, componiéndose principalmente por dos capas: la dermis superior o "capa papilar", la cual es una zona superficial de tejido conectivo laxo, y la dermis profunda o "capa reticular", la cual contiene la mayoría de anexos de la piel. Estos anexos cobran vital importancia ya que ayudan a atrapar a los nanotransportadores creando un reservorio, permitiendo así una liberación prolongada del principio activo (Zhang et al., 2013).

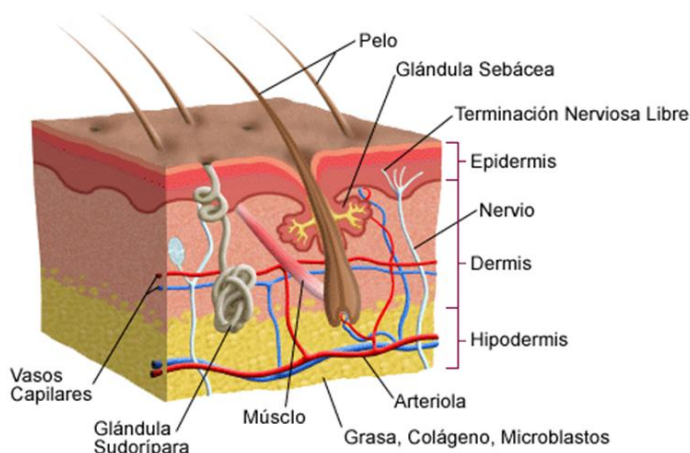


Figura 2. Esquema visual de la estructura de la piel.

2.1.1 Anexos de la piel

Los anexos de la piel están compuestos de las *glándulas sudoríparas* (ecrina y apocrina), los *folículos pilosos*, las *glándulas sebáceas* y las *uñas*.

El *folículo piloso*, formado a partir de una invaginación tubular de la epidermis, contiene varios tipos de células madre las cuales dan crecimiento al cabello además de ser responsables de la epitelización. Cada folículo está asociado a una *glándula sebácea* que secreta un lípido complejo o "sebo" y un músculo piloerector. Las *glándulas sudoríparas* producen el sudor esencial para la regulación de la temperatura.

2.2 Liberación tópica y transdérmica a través de la piel.

La efectividad de la terapia tópica depende de las propiedades fisicoquímicas del fármaco y de la adherencia del paciente al tratamiento. Las formulaciones convencionales para la administración tópica y dermatológica de fármacos tienen ciertas limitaciones, como son la baja permeabilidad, una falta de adherencia a la piel y una mayor dificultad de seguimiento del tratamiento por parte del paciente. El mantenimiento del principio activo en el tejido corporal durante un cierto periodo de tiempo es clave en el tratamiento. Además, algunos

medicamentos pueden llegar a interactuar con diferentes capas de la piel durante el transcurso del proceso de penetración percutánea, dando como resultado una absorción limitada. Las interacciones producidas pueden deberse a la unión a diferentes estructuras del tejido, tanto de forma reversible como irreversible, como por ejemplo la unión covalente con la queratina del estrato córneo o bien unirse a sitios más específicos de la piel produciendo en este caso una respuesta fisiológica: una actividad terapéutica o una reacción alérgica. (Lane, 2013)

Sin embargo, no todo son desventajas con respecto a esta vía en comparación con otras rutas de liberación:

Ventajas únicas de la vía tópica y transdérmica:

1. En las enfermedades de la piel, la aplicación tópica permite liberar directamente el principio activo en la zona afectada.
2. Son requeridas pequeñas cantidades de fármaco para producir un efecto terapéutico: causa menos reacciones adversas.
3. No requiere alcanzar un nivel plasmático de fármaco.
4. La biodisponibilidad se ve aumentada debido a la ausencia del efecto del primer paso hepático.
5. Se mejora considerablemente el cumplimiento del paciente al eliminar la dosificación frecuente. (Zhang et al., 2013)

Existen dos vías principales de penetración cutánea de los principios activos, cada una con diferente grado de accesibilidad (Figura 3).

a.- *Vía Transepidérmica*: a través del estrato corneo (Figura 4a). Es la vía principal y se difunden de forma:

a.1.- Transcelular: a través de los poros formados en las membranas celulares “pathways”.

a.2.- Intercelular: a través del espacio intercelular.

b.- *Vía Transpendicular*: Es la vía de acceso de los anejos cutáneos: glándulas sudoríparas y sistema pilo-sebáceo (Figura 4b).

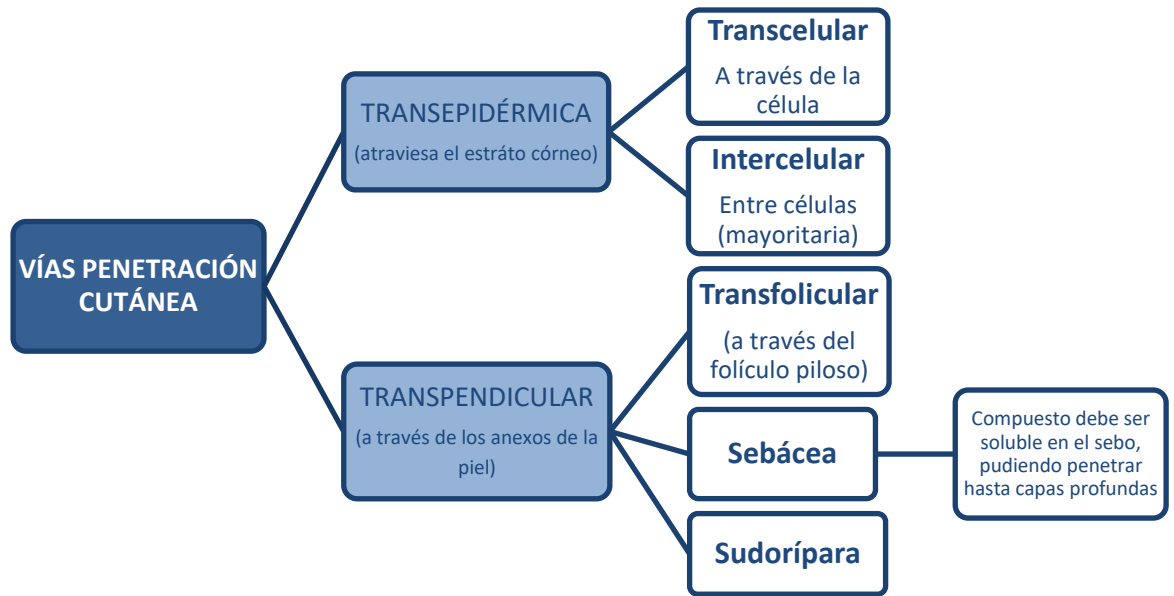


Figura 3. Esquema de las vías de penetración cutánea.

La contribución de la vía folicular es considerada hasta ahora como despreciable, debido a que la fracción del área de piel cubierta por vello es bastante pequeña, en torno a un 0.1% (Bolzinger et al., 2012). Sin embargo, el suministro de fármacos por esta vía puede ser importante para la permeación de compuestos de difusión lenta y sustancias de muy alto peso molecular, como las nanopartículas. (Lademann et al., 2011).

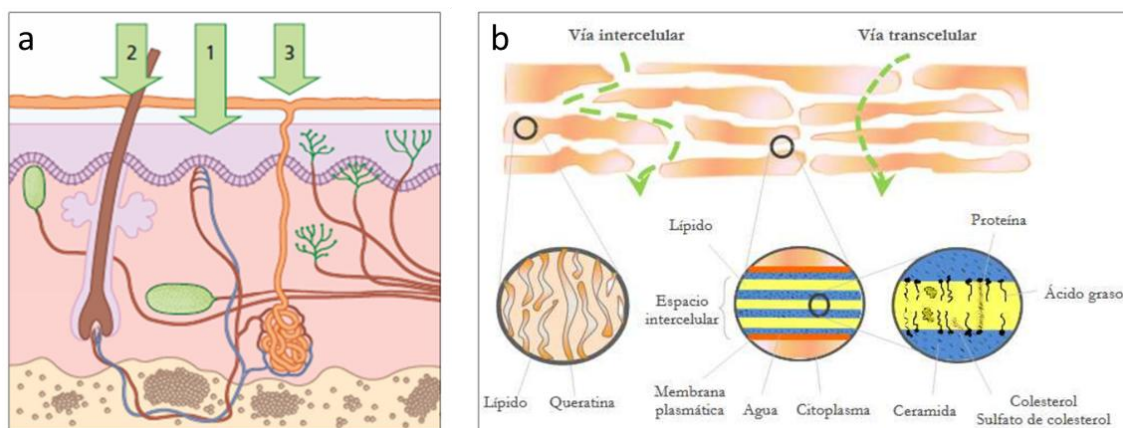


Figura 4. Esquema de las vías principales de penetración

(a) **1.** Transepidérmica, **2.** Transpendicular: folículos pilosebáceos y **3.** Glándulas sudoríparas. (b) Vías de penetración intercelular y transcelular a través de la epidermis.

2.3. Métodos para aumentar la penetración pasiva y activa

Uno de los impedimentos que se encuentran los fármacos en el proceso de penetración a través de la piel es el estrato córneo, siendo éste, el más importante a destacar. Esta membrana, cuyo espesor va de 15 a 20 μm , consta de células muertas, llamadas

corneocitos, embebidos en una matriz lipídica, siendo las principales clases de lípidos en esta membrana las ceramidas, el colesterol y los ácidos grasos libres, pudiéndose representar su estructura como un "muro de ladrillos" con múltiples láminas lipídicas (Bolzinger et al., 2012). En el caso de los fármacos hidrófobos, la vía de preferencia es la intercelular, a través de los lípidos empaquetados. Por el contrario, las hidrófilas tendrán esta ruta más dificultada, optando entonces por la vía transcelular a través de los corneocitos. Sin embargo, estas últimas deberán realizar algún paso a través de los lípidos para pasar entre corneocitos, por lo que la penetración será parcialmente intercelular, lo cual es determinante de la velocidad.

La absorción, por tanto, va a depender de factores intrínsecos del fármaco (Tabla 1) y de factores fisiológicos tales como la zona anatómica de aplicación, el estado de hidratación de la piel, espesor e integridad del estrato córneo y de la forma de vehiculización empleada.

FÁRMACOS SUSCEPTIBLES DE SER ADMINISTRADOS VÍA TRANSDÉRMICA		
PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS	Peso molecular	Cuanto menores sean sus valores, mejor permean a través del estrato córneo
	Tamaño molecular	
	Punto de fusión	
	Coefficiente reparto octanol/agua	1-4
PROPIEDADES BIOFARMACÉUTICAS Y FARMACOCINÉTICAS	Semivida de eliminación corta	
	Efecto PP cutáneo nulo o reducido (salvo profármacos)	

Tabla 1. Propiedades de los fármacos empleados por vía transdérmica.

En resumen, no todos los compuestos van a poder penetrar a través del estrato córneo: aquellos con moderada lipofilia (coeficiente de reparto octanol/agua entre 1 y 4) y peso molecular menor de 500 Daltons son capaces de permear a través del estrato córneo alcanzando las capas profundas de la piel. (Zhang et al., 2013)

El estudio de métodos de mejora de fármacos para vencer la barrera y aumentar la penetración cutánea, se remonta varios años atrás, desde la década de los 80s. A pesar de la existencia de compuestos que cumplen los requisitos favoreciendo la penetración, se mejora el transporte a través de la piel mediante la implantación de otros medios, pudiéndose clasificar éstos en métodos de mejora de penetración activa y pasiva.

2.3.1. Difusión pasiva

La difusión pasiva es un proceso cinético que consiste en el paso de una sustancia a través de la membrana desde una zona de alta concentración a otra de menor concentración, creándose un gradiente de concentración que es la fuerza motriz que conduce al movimiento molecular en la piel. Es descrita por la Ley de Fick, estableciéndose que el flujo (J) es inversamente proporcional al espesor según la expresión: (Ariza, 2004)

$$J = D K \frac{\Delta C}{h} \quad (\text{Ecuación 1})$$

J : flujo de difusión ($\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{s}$)

K : coeficiente de partición entre el estrato córneo y el vehículo del fármaco

D : Coeficiente de difusión del fármaco en el estrato corneo (cm^2/s)

ΔC : Diferencia de concentración a través de la membrana (g/cm^3)

h : Espesor del estrato córneo (g/cm^3)

Métodos de mejora de la difusión pasiva.

A partir de la ecuación 1, han sido diseñadas tres estrategias diferentes en base a los parámetros descritos: (Figura 5)

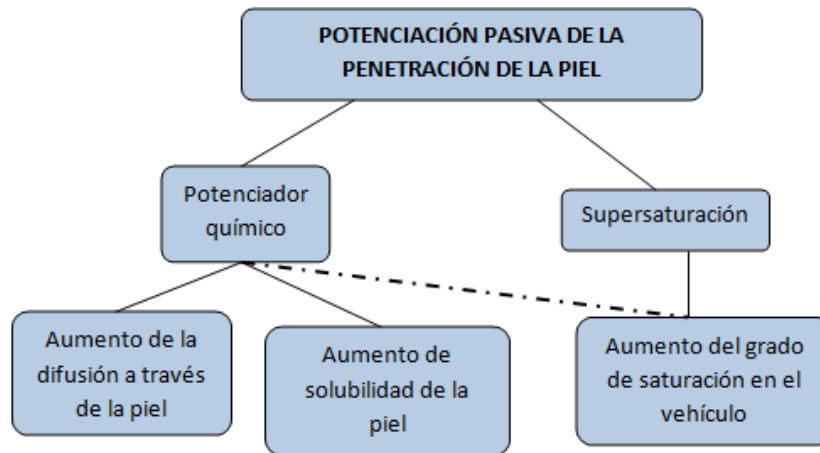


Figura 5. Esquema de las estrategias de potenciación pasiva de la penetración de la piel

Estrategias 1 y 2: incremento de D y K

Para conseguir este incremento, debe haber una acción sobre los lípidos del estrato córneo como la extracción o un desorden temporal de los lípidos que actúan como barrera limitante. Se puede lograr dichos resultados través de *potenciadores químicos* de la

penetración tipo sulfóxidos (DMSO), ácidos grasos (ácido oleico) o alcoholes (Zhang et al., 2013).

Estrategia 3: incremento de ΔC

Se fundamenta en la interacción entre el principio activo y el vehículo, pudiendo llegar a éste objetivo a través del alcance del fenómeno conocido como "*supersaturación*" y empleando vehículos de tamaño nanométrico. (Moser et al., 2001)

2.3.2. Difusión activa

En el transporte activo se emplea energía, ya que requiere la fuerza opuesta a algún tipo de gradiente o resistencia. Éste fenómeno tiene lugar en moléculas de un alto peso molecular (>500 Da), de carácter polar o hidrofílicas, para las cuales los métodos de potenciación mencionados anteriormente no tienen validez, tales como fragmentos de ADN, péptidos y vacunas.

Potenciación de la difusión activa

Se han desarrollado diversos mecanismos que permiten conseguir disminuir temporalmente la impermeabilidad de la piel.

a) Microagujas (MNs):

Poseen un tamaño inferior a 900 μm , lo cual limita tanto el daño del tejido como el dolor para el paciente, ya que no alcanza zonas vasculares y nerviosas profundas (Figura 6). (Champeau et al., 2019).



Figura 6. Canales creados por MNs para atravesar el SC.

Las MNs tienen un gran potencial terapéutico y comercial por sus características, entre las que se incluyen la simplicidad del método ya que permite la autoadministración sin personal sanitario especializado (Sabri, et al., 2019). Ésta técnica resulta efectiva tanto para micro como macromoléculas (péptidos, ácidos nucleicos, proteínas) cuya aplicación resulta interesante para el aumento de la eficacia de las vacunas al crearse unos canales de tamaño micrométrico en el estrato córneo permitiendo así la liberación del fármaco en la epidermis.

b) Eliminación de la capa córnea:

Puede realizarse mediante abrasión empleando una almohadilla compuesta de cristales de óxido de aluminio, reduciendo así el grosor de la capa córnea con la eliminación de las capas de hiperqueratosis, mejorando significativamente la administración transdérmica. (Champeau et al., 2019)

c) Ondas de ultrasonido:

Las ondas de ultrasonido aumentan la permeabilidad de la piel al provocar la alteración del empaquetamiento de los lípidos de la capa córnea. Para ello se emplean ondas de ultrasonido a diferentes frecuencias, generalmente induciendo una mayor permeabilidad a bajas frecuencias (kHz) (Park et al., 2019).

d) Electroporación:

Permite incrementar la permeabilidad cutánea mediante el uso de pulsos de alto voltaje que generan poros nanométricos acuosos temporales en la bicapa lipídica dentro de la capa córnea (Figura 7).

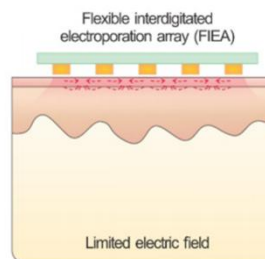


Figura 7. Imagen de Electroporación

2.4. Sistemas de aplicación tópica basados en nanopartículas poliméricas

Los nanotransportadores son estructuras que varían entre los 1 y los 100 nm los cuales han sido ampliamente estudiadas en las últimas décadas para diversas aplicaciones biomédicas como el diagnóstico de enfermedades, modificación de tejidos, vacunación o la mejora de la eficacia en la administración medicamentos en el lugar de acción (Coelho et al., 2010). Ésta última aplicación nos resulta de gran interés en este trabajo de fin de grado, ya que permite adaptar las propiedades farmacocinéticas de un medicamento a las necesidades terapéuticas de situaciones fisiopatológicas determinadas. (Salata, 2014).

Según su composición encontramos varios tipos de nanopartículas (NPs), las compuestas por sustancias minerales y elementos metálicos (oro, plata, sílice coloidal), o las NPs poliméricas, en las que nos vamos a enfocar, compuestas tanto por polímeros naturales

(quitosano o gelatina) como por polímeros sintéticos (PLGA, PCL) (Upadhyay, 2014). Dentro de las NPs poliméricas distinguimos dos grandes grupos, las *nanoesferas* y las *nanocápsulas* (Figura 8) (Cohelo et al., 2010). Las *nanoesferas* son sistemas matriciales compuestos por una mezcla uniforme de polímero y fármaco, donde encontramos el principio activo entre las redes de los polímeros que lo componen, mientras que las *nanocápsulas* encierran la sustancia activa en un núcleo sólido o líquido envuelto en una cubierta polimérica (Cardeal et al., 2016). Las diferencias entre ambas NPs llevan a distintas propiedades en cuanto a la forma de liberar el contenido, y la obtención de un tipo u otro depende del método de preparación llevado a cabo (Amol et al., 2018).

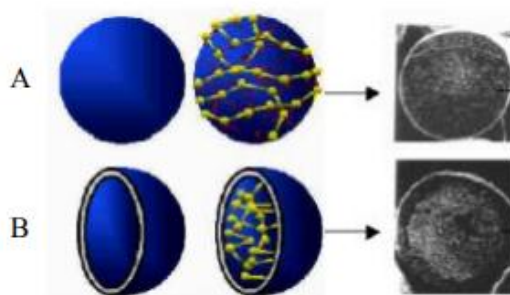


Figura 8. Representación de una *nanoesfera* (A) y una *nanocápsula* (B).

Las NPs deben estar preparadas a partir de materiales biodegradables, biocompatibles y estables en condiciones fisiológicas para permitir su uso clínico (Liu et al., 2016).

2.5. Método de preparación de nanopartículas.

Actualmente existen varios métodos de obtención de NPs poliméricas. De forma general, podemos obtenerlas a partir de un polímero preformado o realizar la síntesis a partir de reacciones de polimerización de monómeros, en las que incluiremos un tercer método, la gelificación iónica (Gilbert et al., 2012). Es preciso tener en cuenta una serie de parámetros antes de su elaboración, como el tipo de disolvente, la solubilidad del principio activo, el tiempo de mezcla de los disolventes acuosos y orgánicos entre otros, así como las propiedades físico-químicas de la sustancia activa, su tamaño y la carga del sistema nanométrico (Kamaly et al., 2013).

Las técnicas para la obtención de NPs a partir de un polímero preformado son: evaporación del disolvente, nanoprecipitación, difusión de emulsificación, proceso "salting-out" y diálisis. Mientras que para obtener NPs a partir de la polimerización de monómeros, las técnicas empleadas son la emulsión y la polimerización interfacial (Figura 9) (Amol et al., 2018).

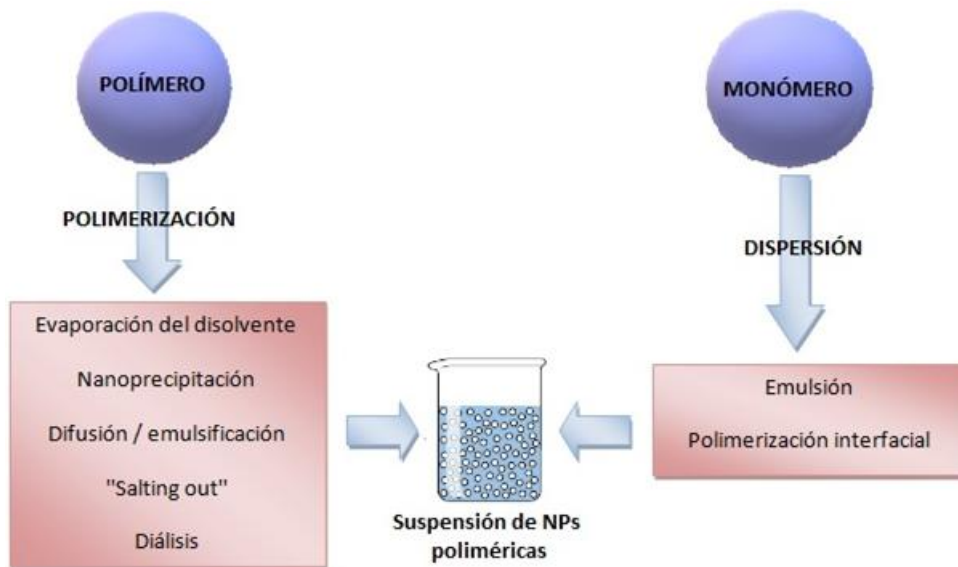


Figura 9. Esquema de las técnicas empleadas para la obtención de NPs

2.6. Polímeros usados en la preparación de nanopartículas

El material polimérico a usar en las NPs debe ser compatible fisiológicamente, no tóxico para el paciente, no produzca una respuesta inmune y biodegradable (Scott et al., 2005). Podemos clasificar los polímeros en dos categorías principales según sean naturales o sintéticos, y dentro de este último grupo, dependiendo de si son biodegradables o no (Figura 10).

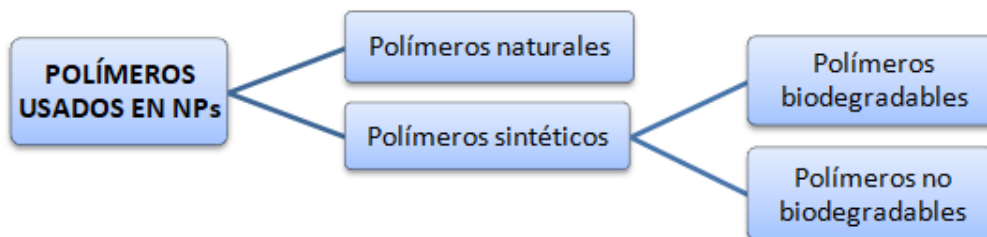


Figura 10. Esquema de diferentes materiales poliméricos empleados en NPs

2.6.1. Nanopartículas compuestas de polímero natural

Estos materiales se pueden encontrar en la naturaleza como tal, obtenidos a través del método de extracción adecuado. Podemos destacar quitosano, alginato, gelatina y albúmina. Sus propiedades permiten la formación de hidrogeles, lo cual los convierte en portadores ideales para oligonucleótidos, péptidos, proteínas y fármacos hidrosolubles (Zhang et al., 2013).

En la tabla 2, se muestran algunos de los ejemplos más importantes de sistemas nanoparticulares de polímeros naturales que contienen fármaco y su aplicación:

Polímero	Fármaco	Tratamiento	Tamaño
<i>Gelatina</i>	Pilocarpina hidrocloreuro	Uso oftálmico, glaucoma	300-500 nm
<i>Quitosano</i>	Retinol	Acné, arrugas	50-200 nm
<i>Quitosano-TPP</i>	Aciclovir	Herpes	350-700 nm
	Plásmido ADN	Inmunidad genética	200-287 nm
<i>Lecitina-Quitosano</i>	Clobetasol	Antineoplásico, antiinflamatorio	250 nm
	Quercetina	Antioxidante	95-186 nm

Tabla 2. Sistemas nanoparticulares de polímeros naturales

2.6.2. Nanopartículas compuestas de polímero sintético

Obtener el mismo perfil de liberación del fármaco de las diferentes NPs es uno de los obstáculos que pueden presentar los materiales poliméricos naturales. Sin embargo, los polímeros sintéticos ofrecen ventajas como una alta pureza y características reproducibles en cuanto a liberación de fármaco en los diferentes lotes fabricados. En comparación con los biopolímeros, los polímeros sintéticos presentan un uso más frecuente para principios activos de pequeño tamaño y de carácter lipófilo/hidrófobo. El uso limitado a los fármacos hidrófilos se debe al método de preparación de las NPs, ya que el empleo de disolventes orgánicos compromete la actividad del compuesto en técnicas como la doble emulsión. No son las únicas moléculas que sufren este inconveniente, péptidos y proteínas también ven comprometidas su actividad debido a los disolventes orgánicos (Panyam y Labhassetwar, 2003).

Los polímeros sintéticos más usados en aplicaciones farmacéuticas son los poliésteres alifáticos biodegradables, como los copolímeros de poli(láctico-co-glicólido) (PLGA) y poli(ϵ -caprolactona) (PCL), así como polímeros no degradables como etilcelulosa y poliestireno (Zhang et al., 2013).

2.7. Penetración de NPs en la piel

Como es sabido, las NPs pueden ser diseñadas para obtener las características fisicoquímicas deseadas, lo que le permite cambiar el modo de interactuar con las diferentes capas de la piel. Los factores que más influyen en este aspecto son el tamaño de las NPs, su forma, la carga, su capacidad de deformación y la polaridad. Se han llevado a cabo estudios que muestran una mejora en la penetración empleando NPs de menor tamaño (Liang et al., 2013), de forma esférica (Ryman et al., 2006), con mayor capacidad de deformación por la posibilidad de pasar entre los corneocitos (José Morilla y Lilia Romero, 2016) y las cargadas

positivamente debido a las interacciones electroestáticas con las cargas negativas de la piel en condiciones fisiológicas normales (Contri et al., 2016).

En los tratamientos tópicos con NPs tienen lugar su liberación en la capa córnea, a nivel de la superficie, en los surcos o en los folículos pilosos de la piel. El fármaco puede liberarse tanto en la epidermis como en la dermis (Figura 11) (Prow et al., 2011).

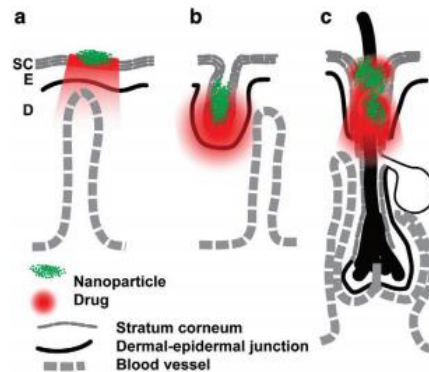


Figura 11. Descripción gráfica de la penetración de NPs y sitios de liberación de fármaco: (a) nivel superficial, (b) surcos y (c) folículos pilosos de la piel.

3. OBJETIVOS

Objetivo general:

Actualmente la administración por vía tópica de fármacos está alcanzando un gran interés, porque además de tener una acción local sobre patologías cutáneas, también presenta una acción sistémica, siendo una alternativa a otras vías que presentan limitaciones o dificultades.

Las formas farmacéuticas de administración tópica que logran que el principio activo alcance el lugar de acción, son numerosas y emplean diferentes mecanismos. Entre todas ellas nos centraremos en las nanopartículas, ya que han permitido el desarrollo de “nanoterapias” facilitando el diseño de sistemas avanzados con múltiples aplicaciones.

Objetivos específicos:

- Obtener una visión general de las **ventajas** que nos pueden ofrecer las NPs poliméricas para mejorar los tratamientos tópicos
- Conocer los diferentes **métodos de preparación** de las NPs de material polimérico
- Presentar los **polímeros más importantes** usados para la preparación de NPs así como sus principales características y resultado de los estudios realizados con diferentes principios activos.

4. METODOLOGÍA

La realización de éste trabajo de tipo bibliográfico se ha centrado en la búsqueda de NPs de tipo polimérico aplicadas al transporte de principios activos a través de la piel. Para la búsqueda de artículos científico se utilizaron recursos proporcionados por la biblioteca virtual de la Universidad de Sevilla, utilizando la base de datos de Pubmed además de búsquedas en la página web oficial de la editorial Elsevier y bases de datos como Scopus, SpringerLink y ScienceDirect. Se utilizaron palabras claves como "*nanoparticles*", "*polymeric*", "*skin penetration*", "*drug delivery*" y nombres de diferentes compuestos poliméricos a los que se hace referencia en ésta revisión. La búsqueda también se ha centrado en diferentes métodos de preparación para estos nanosistemas y anatomía de las diferentes capas de la piel para entender mejor las vías de penetración a través de ella.

En la siguiente gráfica, podemos observar, el creciente número de artículos publicados relacionado con las "nanopartículas poliméricas y su penetración en la piel" (*Datos recogidos de Science Direct*) dejando clara evidencia de su potencial en los nuevos avances (Figura 12).



Figura 12. Gráfica que muestra el crecimiento exponencial en el número publicaciones de nanopartículas empleadas en la administración tópica

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como ya hemos comentado, las NPs y la variedad de materiales poliméricos disponibles ofrecen un gran abanico de posibilidades para la optimización de los tratamientos tópicos, superando las limitaciones de los tratamientos convencionales.

En este trabajo se han revisado una serie de artículos consistentes en ensayos clínicos, meta-análisis y revisiones bibliográficas acerca de las investigaciones más recientes en este campo de investigación. Por lo tanto, podremos obtener una visión general de la versatilidad

de estos nanosistemas de tipo polimérico, los métodos de preparación y su potencial uso clínico.

5.1 Sistemas de aplicación tópica basados en nanopartículas poliméricas

Como hemos podido conocer anteriormente, existen métodos de mejora de la penetración a través de la piel como las microagujas o la eliminación de la capa córnea, sin embargo éstos producen irritación, causan daño y reducen las funciones de la barrera de la piel. La necesidad de liberación de fármacos a través de la capa córnea sin alterar las características de la piel, pone especial atención en las NPs poliméricas para el desarrollo de nuevas formulaciones.

Frente a los tratamientos convencionales, las características físico-químicas de estos sistemas aportan protección a los principios activos más inestables ante la degradación o desnaturalización por metabolismo, llegando a una reducción de los efectos adversos que se consigue a través de la liberación controlada y la mejora de la penetración cutánea a través de la capa córnea mediante el aumento del gradiente de concentración (Amol et al., 2018).

Tanto los polímeros sintéticos como los semisintéticos, biocompatibles y biodegradables, han demostrado grandes mejoras en el tratamiento tópico. Así estudios realizados con polímeros como el poli(láctico-co-glicólico) (PLGA), poli(ϵ -caprolactona), quitosano, combinación de quitosano y poli (gamma-ácido glutámico) y (gamma-PGA) ponen de manifiesto:

- i. Una reducción de la degradación prematura de los principios activos lábiles.
- ii. Un perfil de liberación controlada y sostenida gracias a las modificaciones del polímero.
- iii. Un aumento de la actividad dirigida, con reducción de efectos adversos por absorción sistémica.
- iv. Una reducción de la irritación. (Amol et al., 2018).

5.2 Métodos de preparación de NPs poliméricas

5.2.1 Nanopartículas obtenidas a partir de la dispersión un polímero preformado

Es usado normalmente para preparar NPs biodegradables de ácido poliláctico (PLA), poli(D,L-glicólido) (PLG), ácido poli (láctico-co-glicólico) (PLGA) y poli (cianoacrilato) (PCA).

a) Evaporación del disolvente

Este método se basa en preparar una emulsión a partir de una fase acuosa con el correspondiente agente emulsionante y un disolvente volátil inmiscible con el agua que va a constituir la fase orgánica, donde encontramos el principio activo y el polímero que constituye

la matriz (Madelein et al., 2018). Inicialmente los disolventes volátiles más utilizados fueron el diclorometano o el cloroformo. Actualmente, se han reemplazado por el acetato de etilo, ya que demuestra un mejor perfil toxicológico (Anton et al., 2018). Tras la aplicación de energía mediante procesos como el ultrasonido o la agitación, creamos una emulsión con una fase dispersa que contiene el polímero, el principio activo y disolvente orgánico. La posterior evaporación del disolvente orgánico nos proporciona una suspensión de NPs por el proceso de precipitación del polímero, encapsulando el principio activo hidrófobo (Figura 13) (Lee et al., 2016). La recuperación de las NPs se puede realizar por ultracentrifugación con posteriores lavados para eliminar restos no deseados. Se ha demostrado que hay determinados factores con gran implicación en el tamaño de las NPs, como la naturaleza y concentración del estabilizador de la emulsión, la velocidad de homogeneización y la concentración del polímero (Zohri, 2009).



Figura 13. Representación gráfica técnica "evaporación del disolvente". (Llabot et al., 2013)

b) Nanoprecipitación o técnica de desplazamiento del disolvente

La nanoprecipitación es una técnica considerada fácil y reproducible, basada en la emulsión/precipitación (Reis et al., 2016) en la que tenemos un solvente miscible con agua y de fácil evaporación, que suele ser acetona, y una solución acuosa. La solución con acetona contiene el polímero y el principio activo, que se adiciona a la fase acuosa, enriquecida con tensioactivos de origen natural y sintético. Tras la evaporación de la acetona, obtenemos una suspensión acuosa de NPs (Figura 14) (Mishra., et al 2010).

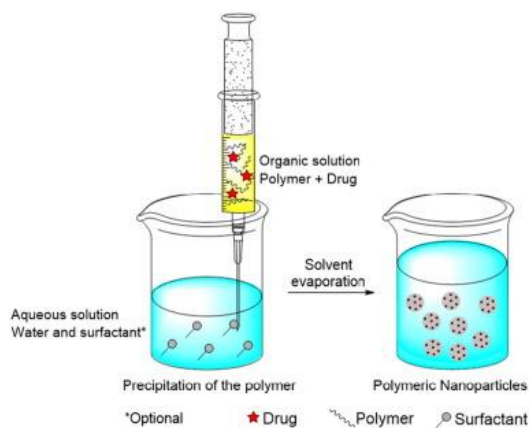


Figura 14. Representación gráfica técnica " Nanoprecipitación ".

La naturaleza y concentración de los tensioactivos empleados, evitan la aglomeración de las NPs e influye en el tamaño final. (Limayem et al., 2006) Debido a la miscibilidad del solvente con la fase acuosa, este método no es eficiente para encapsular principios activos solubles en agua, por lo que es usada principalmente para fármacos lipofílicos. (Galindo et al., 2004)

c) Emulsificación / Difusión del solvente (ESD)

En éste método tenemos un solvente como acetona o carbonato de propileno, parcialmente soluble en agua, con el polímero y el principio activo disueltos. Se emulsiona en la fase acuosa, que contiene los estabilizadores, evitando así cualquier aglomeración de las gotas de la emulsión por adsorción en la superficie de las mismas. Tras añadir el agua, se produce la difusión de disolventes a la fase externa, precipitando las NPs formadas (Figura 15). Por último, se elimina el disolvente por evaporación o filtración, dependiendo del punto de ebullición. (Reis et al., 2006) (Lee et al., 2016)

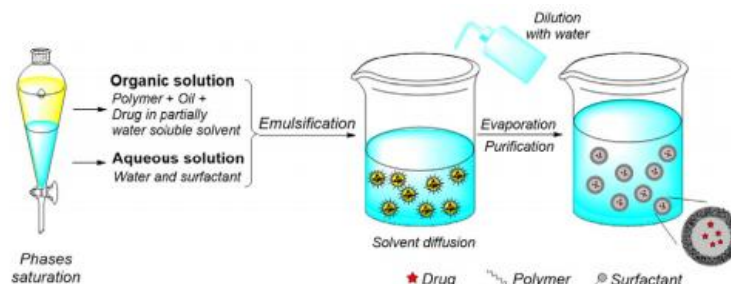


Figura 15. Representación proceso emulsificación/difusión del disolvente

d) Salting out

Esta técnica es una variación de la anterior que permite evitar compuestos potencialmente peligrosos, como es el uso de disolventes orgánicos o clorados. La emulsión es realizada con un disolvente miscible en agua que contiene el polímero y el fármaco, y la disolución acuosa contiene una alta concentración de sales y estabilizadores coloidales. Al producirse una reducción de la concentración de electrolitos en la fase continua de la emulsión, se provoca la precipitación de las NPs (Figura 16) (Fan et al., 2006).

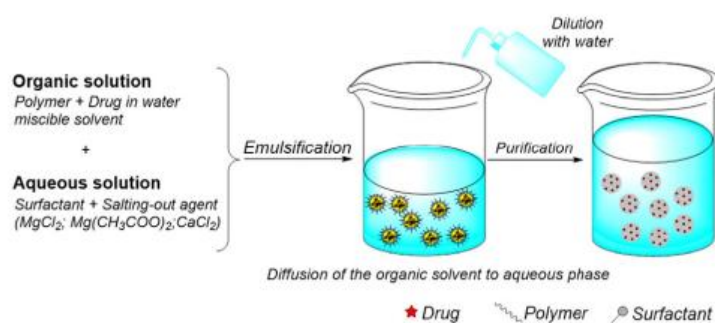


Figura 16. Representación proceso "salting out" (Crucho et al., 2017)

En este proceso se consigue producir una alteración en las propiedades de miscibilidad del agua con los disolventes, usando electrolitos como el cloruro de magnesio, el cloruro de calcio y el acetato de magnesio. (Galindo et al., 2005). Uno de los límites que tiene ésta técnica, es su uso exclusivo para fármacos lipofílicos, con la ventaja de poder usar sustancias termolábiles ya que no se requieren altas temperaturas en el proceso. (Lamber et al., 2011)

e) Diálisis

En ésta técnica se emplea el llamado "tubo de diálisis", en el que se incluye el disolvente orgánico en el que se ha disuelto previamente tanto el polímero como el fármaco. En el exterior, un solvente miscible con el anterior, provoca un desplazamiento con el objetivo de equilibrar ambas concentraciones lo que desencadena la precipitación homogénea de las NPs por pérdida de solubilidad (Figura 17). (Faheem et al., 2009)

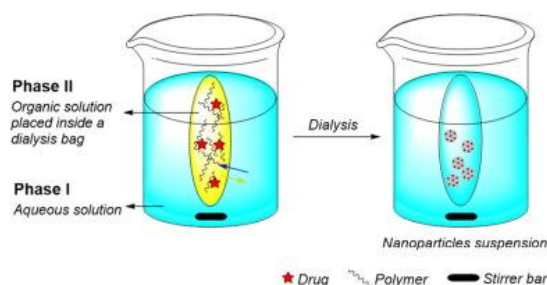


Figura 17. Descripción gráfica del proceso de diálisis.

5.2.2. Nanopartículas obtenidas por polimerización de monómeros.

A continuación vamos a describir las técnicas de polimerización llevadas a cabo para la preparación de NPs a través de éste método, en el cual se debe pre-diseñar el polímero con las propiedades necesarias para la aplicación requerida. Las NPs son obtenidas durante el proceso de polimerización de los monómeros.

i. Polimerización por emulsión

La polimerización por emulsión presume de ser un método escalable, rápido y de fácil preparación, donde podemos sustituir los disolventes costosos por agua como medio de dispersión (Gilber, 2012). Es un método que no requiere necesariamente tensioactivos ni emulsionantes si el monómero escogido tiene cierta solubilidad en el medio acuoso, siendo este medio la fase continua. (Amol et al., 2018)

Desde un punto de vista general, este proceso de polimerización consiste en la difusión de gotas de monómero emulsificado en micelas o con partículas de polímero recién formadas. Para poderse difundir a través de la fase acuosa, el monómero debe tener un mínimo de solubilidad en agua. Luego se agrega un iniciador soluble en agua, el cual al descomponerse genera radicales libres, los cuales entran en las micelas para reaccionar con el monómero que

está dentro de ellas e iniciar la reacción de polimerización. El mecanismo de polimerización y formación de partículas no queda del todo esclarecido, siendo dos los mecanismos más aceptados, el de *nucleación micelar* y el de *nucleación homogénea*. De forma general, los monómeros se asocian formando "oligoradicales", hasta alcanzar una longitud de cadena que compromete su solubilidad en el medio acuoso. Es aquí cuando comienza la fase de nucleación, ya sea formando micelas (*nucleación micelar*) o precipitando como nuevas partículas poliméricas (*nucleación homogénea*). El estado final se alcanza cuando tiene lugar la desestabilización de las micelas restantes hasta su desaparición, punto en el cual los monómeros migran, mediante difusión, desde las gotas de monómero hacia las partículas de polímero hasta que no quede ninguna (Figura 18). (Gharieh et al., 2019)

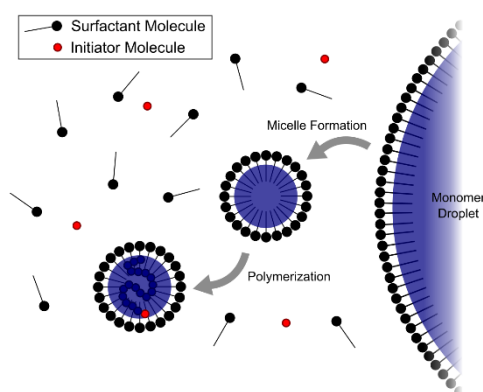


Figura 18. Diagrama de la polimerización en emulsión.

ii. Polimerización interfacial

Es uno de los métodos establecidos para la síntesis de NPs poliméricas (Wu et al., 2009). Este método es llevado a cabo por pasos, en los que dos agentes reactivos o monómeros se encuentran disueltos en dos fases, fase continua y fase dispersa respectivamente. La reacción tiene lugar en la interfase (Figura 19) (Karode et al., 1998).

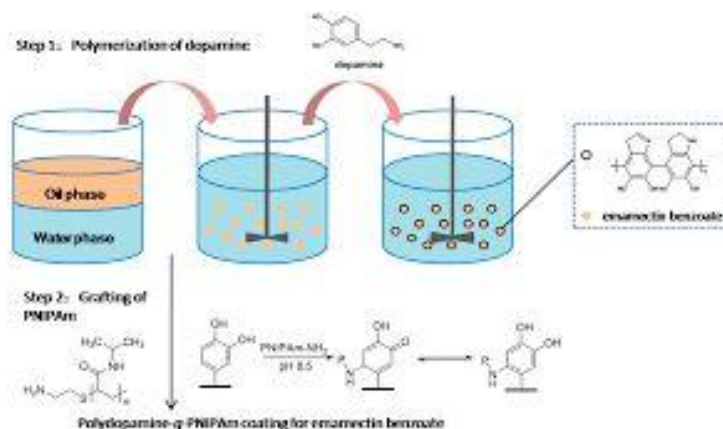


Figura 19. Diagrama de la polimerización en emulsión.

5.2.3 Gelificación iónica

La tercera y última técnica que se va a considerar para la formación de NPs, es usada con polímeros hidrofílicos biodegradables tipo quitosano y alginato sódico. (Amir et al., 2008)

Un método típico de preparación tiene como fundamento la mezcla de dos fases acuosas, quitosano y aniones tripolifosfato (TPP) respectivamente. La solución de quitosano tiene un pH en un rango entre 4 y 6, donde su grupo amino se encuentra cargado positivamente, mientras que la solución con TPP posee un pH entre 7 y 9, donde los grupos fosfato se encuentran con carga negativa. Estas cargas opuestas interactúan formando enlaces, teniendo como resultado un coacervado de tamaño nanométrico (Figura 20). Para el alginato, la reacción puede iniciarse con cualquier especie catiónica, como un ión metálico divalente (cloruro de calcio) (Kaloti and Bohidar, 2010) (Amir et al., 2008).

Las NPs son formadas como resultado de la interacción electrostática entre ambas fases acuosas, mientras que el concepto de "gelificación iónica" tiene lugar debido a la transición del líquido a gel por la interacción iónica (Amir et al., 2008).

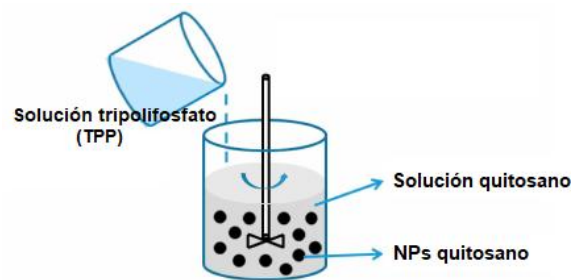


Figura 20. Representación del método de gelificación iónica.

5.3. Polímeros usados en la preparación de NPs

En este apartado se discuten las características de los principales polímeros usados en NPs con potencial uso clínico, tanto naturales como sintéticos, además de presentar algunos de los estudios que se han realizado con diferentes materiales poliméricos y cargados con diferentes principios activos.

5.3.1 Polímeros de origen natural

a) Quitosano

El quitosano es un aminopolisacárido abundante en la naturaleza que puede ser obtenido a escala industrial a través de reacciones de N-acetilación termoalcalina de la quitina (Subramanian et al., 2006). Está compuesto por unidades de 2-amino-2-deoxi- β -D-glucosa y 2-acetamido-2-deoxi- β -D-glucosa unidas por enlace β (1 \rightarrow 4) (Figura 21). Las NPs formadas por este material pueden obtenerse preferentemente con la técnica de gelificación

iónica explicada anteriormente, ya que es la que aporta más estabilidad al fármaco. (Saboktakin et al., 2011)

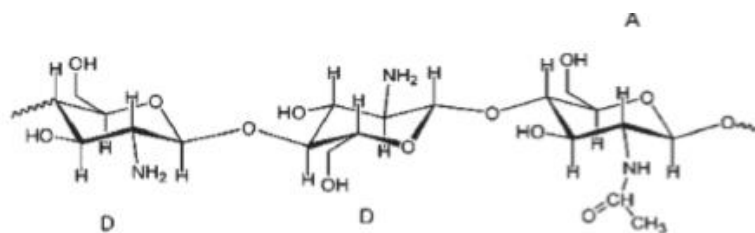


Figura 21. Estructura química de los monómeros que componen el quitosano.

En la última década este biopolímero ha sido protagonista de numerosas innovaciones en la industria farmacéutica, apareciendo en casi la mitad de las patentes registradas en el año 2006 para su uso en liberación de fármacos, ingeniería de tejidos y cicatrización de heridas. (Higuera-Ciapara et al., 2007) Es un material excelente para uso clínico debido a su perfil biológico: biocompatible, biodegradable, mucoadhesivo, no tóxico, no produce respuesta inmune, facilita la absorción de macromoléculas biológicas a través de barreras epiteliales y proporciona un buen alcance de las NPs al órgano o tejido diana (Sun and Wan, 2007) con un tamaño que oscila entre los 100 y 400 nm (Dianzani et al., 2014)

Químicamente, los grupos amino presentes en la superficie de las NPs de quitosano le da ventaja al conferirle un carácter policatiónico a un pH por debajo de 6,5 (pKa quitosano), (Jean et al., 2012) haciendo posible la interacción con compuestos aniónicos como macromoléculas terapéuticas (p. ej. insulina, ácidos nucleicos, heparina, etc.) y antigénicas, protegiéndolas de la degradación enzimática e hidrolítica (Rinaudo, 2008), además de hacerle un candidato idóneo para la liberación en las mucosas (Nagarajan et al., 2015) al poder unirse a las mucoproteínas cargadas negativamente, aumentando el tiempo de circulación del fármaco y consecuentemente, su biodisponibilidad.

Estudios realizados para la investigación del potencial de NPs de quitosano para aplicaciones en la mucosa ocular usando el inmunosupresor ciclosporina A de NPs de quitosano obtenidas por gelificación iónica, demuestran su capacidad de contactar íntimamente con los tejidos de la córnea y conjuntiva, sin alcanzar las estructuras oculares internas ni circulación sistémica (De Campos et al., 2001). Este enfoque permite un mayor tiempo de residencia en la mucosa ocular (Figura 22), superando las limitaciones de tratamientos para enfermedades extraoculares como queratoconjuntivitis seca o sequedad ocular.

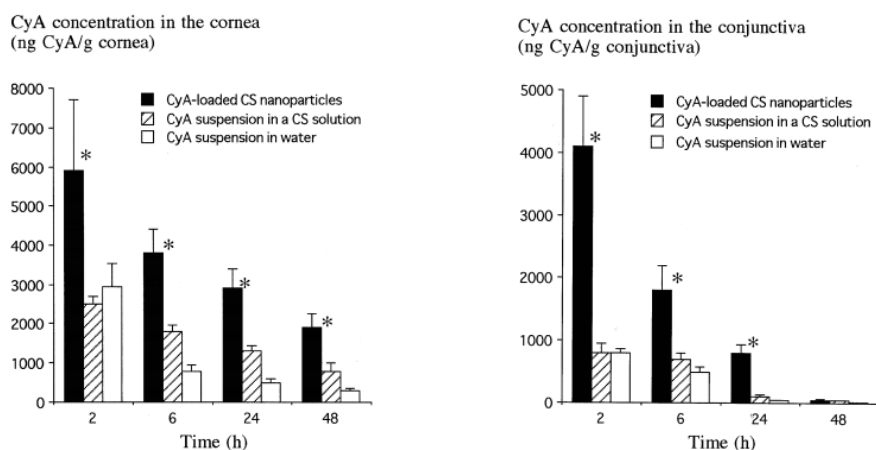


Figura 22. Niveles de Ciclosporina A (ng/g) con respecto al tiempo (horas) tras su aplicación tópica en conejos con las siguientes formulaciones: NPs de quitosano (negro), en suspensión en una solución de quitosano (rayado) y en solución acuosa (blanco), en los tejidos de córnea y conjuntiva, respectivamente.

Las cargas positivas presentes permiten la formación de interacciones electroestáticas con los grupos aniónicos del fármaco en la formación del complejo con quitosano. (Cheng et al., 2010) La estructura de éste polímero permite modificaciones (p.ej. PEGilación o fluoración) (Antoniraj et al., 2018) que incrementan su valor, y asociaciones para formar complejos con agentes como glutaraldehído o TPP cargados negativamente, influyendo positivamente en aspectos como la degradación y el perfil de liberación del fármaco para mejorar las aplicaciones terapéuticas (Belabassi et al., 2017).

Estudios realizados en piel de cerdo con NPs de quitosano y TPP cargadas con aciclovir, principio activo fotosensible, permiten observar una mejoría en su estabilidad con una reducción de la fotodegradación (Hasanovic et al., 2009).

Otras asociaciones investigadas, como NPs de quitosano y lecitina (fosfolípido) demuestran mejoras en los tratamientos tópicos con corticoides, aportando una mejor relación beneficio/riesgo para el clobetasol-17-propionato, además de una mejora de la inhibición del edema en ratas en comparación con las formulaciones convencionales de diflucortolona valerato. (Senyigit et al., 2010) (Ozcan et al., 2013)

La tasa de liberación del fármaco desde las NPs se ve influenciada por la solubilidad, difusión y tamaño, pudiendo hacer un control de la administración de fármaco mediante la degradación del polímero, variando su peso molecular y grado de desacetilación del quitosano. Se puede llegar a proporcionar una liberación sostenida de días a meses (Yoo et al., 2008) incluso formular estas NPs como vehículos de entrega pulsátil, variando la liberación según las necesidades fisiológicas del paciente en patologías como la diabetes (Kashyap et al., 2007).

Otro factor a tener en cuenta para alcanzar la eficacia terapéutica, es la estabilidad física y química de las NPs de quitosano, dependiendo éstas del grado de aglomeración de las partículas, coagulación, temperatura, pH del medio y peso molecular del polímero. (Yoo et al., 2008) (Wang et al., 2011).

Generalmente, la penetración a través de la piel de moléculas activas se ve favorecida, siendo 2,46 veces mayor que formulaciones comerciales de hidrocortisona e hidroxitirosol (Siddique et al., 2016) proporcionando mayores efectos antiinflamatorios y antioxidantes para el tratamiento de la dermatitis atópica (Hussain et al., 2013).

En el campo de la cosmética, formulaciones de retinol han sido encapsuladas en NPs de quitosano demostrando una reducción de algunos de sus efectos adversos menos deseados, como la toxicidad e irritación en tratamientos anti edad y contra el acné (Nagpal et al., 2010)

b) Gelatina

La gelatina es un biopolímero compuesto de aminoácidos, presente en la vida cotidiana y obtenida fácilmente hidrólisis parcial de colágeno, huesos, tendones o tejido conectivo entre otros. Según sea utilizado un tratamiento ácido o básico, obtendremos un tipo diferente de biopolímero, diferenciados por su punto isoeléctrico (Busch et al., 2003). Apto para constituir sistemas nanoparticulares para aplicaciones farmacológicas por su perfil biodegradable, no tóxico y biocompatible, además de permitir modificaciones químicas de su estructura. (Vandervoort y Ludwig, 2004). Su estructura principalmente compuesta por aminoácidos de glicina, prolina (e hidroxiprolina) y alanina es apta para la introducción de modificaciones químicas, además de la posibilidad de formación de uniones covalentes con los principios activos. Estas modificaciones pueden realizarse en la superficie de las NPs ya obtenidas o realizarlas en su matriz, es decir, modificar el polímero antes de ser reducido a NPs (Bajpai y Choubey, 2006). Entre sus aplicaciones, destacamos su uso oftálmico como la proteína nativa de colágeno presente en el ojo, de la cual puede derivar la gelatina.

Nanoformulaciones de este material cargadas de clorhidrato de pilocarpina o hidrocortisona han sido estudiadas para uso oftálmico, centrándose en la eficacia de atrapamiento de los principios activos y su perfil de liberación. En todas las preparaciones de NPs de gelatina se observa, una liberación más lenta de fármaco en comparación con la formulación en solución (Tabla 3) (Vandervoort y Ludwig, 2004), demostrando la posibilidad de emplear las NPs como sistemas de liberación sostenida.

Principio activo	Tamaño	Eficacia atrapamiento	% liberación (a)	% liberación (b)
Pilocarpina	300-500	50%	50% tras 3 horas	30% tras 3 horas
Hidrocortisona	nm	35-45%	60% tras 5 horas	30-40% tras 5 horas

Tabla 3. Resultados de los estudios realizados con NPs de gelatina cargadas con ambos principios activos. La comparación de % de liberación se realiza entre: **(a)** solución control de principio activo **(b)** NPs de gelatina cargadas de principio activo.

5.3.2 NPs de polímero sintético biodegradable.

a) Poli (Láctico-co-Glicólido) o PLGA

El PLGA es un copolímero ampliamente empleado en fabricación de NPs, posee buenas propiedades para su uso en aplicaciones farmacéuticas al ser biocompatible además de biodegradable, ya que tanto el ácido láctico como el ácido glicólico son eliminados por el ciclo de Krebs (o ciclo del ácido cítrico) (Panyam y Labhasetwar 2003).

El PLGA es de los materiales poliméricos más usados para estudiar tratamientos tópicos, y se encuentra actualmente comercializado con diferentes pesos moleculares y ratios de copolímero. Su potencial de uso también reside en la capacidad de cargar las NPs de PLGA con un amplio rango de fármacos, de carácter tanto hidrófilo como lipófilo, y la posible modificación de su superficie para dirigir las NPs al sitio específico. Se pueden usar varios métodos para la formación de NPs de PLGA, como nanoprecipitación o emulsificación entre otros, obteniendo tamaños de partícula con un rango entre 10-1000 nm. Al usar geles de HPMC (hidroxipropil metilcellulosa) o de carbopol, podemos conseguir obtener una penetración más profunda en la piel a la vez que se reduce la pérdida de agua (Kapoor et al., 2015). Una de las ventajas del PLGA que difieren de otros materiales, es la posibilidad de obtener el perfil de liberación requerido con el ajuste de las propiedades físicas y químicas del polímero, como el ratio láctico/ glicólico, tamaño de las NPs, morfología, condiciones del medio, y asociaciones con otros polímeros (Mundargi et al., 2018).

Se han llevado a cabo, estudios de permeación a través de la piel y retención del principio activo, flurbiprofeno, con NPs de PLGA, empleando diferentes ratios láctico/ glicólico y PLGA con polietilenglicol (PEG), usando como control una solución acuosa de flurbiprofeno. Los resultados demuestran sólo un leve aumento de la permeación, siendo mayor en NPs de PLGA-PEG 15%. Sin embargo, se observó un "efecto reservorio" de las NPs con una retención del flurbiprofeno en la piel 9 veces mayor que la formulación control (Figura 23) (Vega et al., 2013). En conclusión, se prueba una reducción de los efectos adversos, ya que al actuar las

NPs como depósito se limita la absorción sistémica, además de la mejora de la eficacia antiinflamatoria al ser liberado mayoritariamente en capas más profundas de la piel.

NSs composition	Retained amount at 24 h ($\mu\text{g g}^{-1} \text{cm}^{-2}$)	ER
FB-solution	4.75 ± 0.45	1.00
PLGA 75:25	38.61 ± 3.91 ^a	8.13
PLGA 50:50	43.16 ± 6.05 ^a	9.09
PLGA 50:50-PEG 5%	40.06 ± 9.34 ^a	8.43
PLGA 50:50-PEG 15%	38.97 ± 4.47 ^a	8.20

Figura 23. Cantidad retenida de flurbiprofeno en la piel (24 horas) según la composición de las NPs.

Otros antiinflamatorios han sido estudiados en NPs de PLGA. Así la carga con indometacina, aportó una significativa mejora de la administración transdérmica en pruebas realizadas in vivo en piel de rata (Tomoda et al., 2011).

Del mismo modo, asociaciones de PLGA con quitosano han sido estudiadas para NPs con superficie modificada con ácido oleico para formar una doble capa, formuladas como gel. Hubo notable incremento de principios activos, como ketoprofeno y spantide II, tanto en epidermis como dermis en comparación con los grupos control (Shah et al., 2012) lo que demuestra la posibilidad de mejoras, a través de NPs de PLGA, en tratamientos de afecciones fúngicas, bacterianas y víricas.

b) Poli-ε-caprolactona (PCL)

La PCL es uno de los polímeros más antiguos, sintetizado en 1930 por el equipo de Carothers. La biocompatibilidad, biodegradabilidad y propiedades mecánicas de este polímero sintético son algunas de las características que hacen que haya sido ampliamente estudiado para la formación de NPs en tratamientos de liberación controlada y aprobado por la FDA para numerosas aplicaciones terapéuticas.

Uno de los aspectos más interesantes es su lenta degradación en condiciones fisiológicas, con un período que alcanza de meses a años (Chen y Thouas, 2015), siendo frecuentes las modificaciones del PCL para cambiar su biodegradabilidad y cumplir con las especificaciones terapéuticas requeridas para la aplicación clínica (Kainthan et al., 2006). Este fenómeno puede explicarse debido a la falta de enzimas capaces de hidrolizar los enlaces del polímero en el cuerpo humano (Gunatillake y Adhikari, 2003) y por su estructura semi-cristalina, que aumenta el tiempo de erosión en comparación con polímeros amorfos (Dash y

Konimalla, 2012). Este perfil de degradación hace al PCL un material con uso potencial para implantes o dispositivos usados en la administración de fármacos a largo plazo (Wei et al., 2009).

Investigaciones de liberación de fármaco dirigida a la unidad pilosebácea proponen, como un buen candidato, formulaciones semisólidas de NPs de PCL. El encapsulamiento de roxitromicina con el colorante Rojo de Nilo mostró alcanzar preferentemente las unidades pilosebáceas del cuero cabelludo humano en estudios ex vivo (Figura 24) (Glowka et al., 2014). Este tipo de acción dirigida, gana cada vez más importancia para tratamientos de acné o caída de pelo.

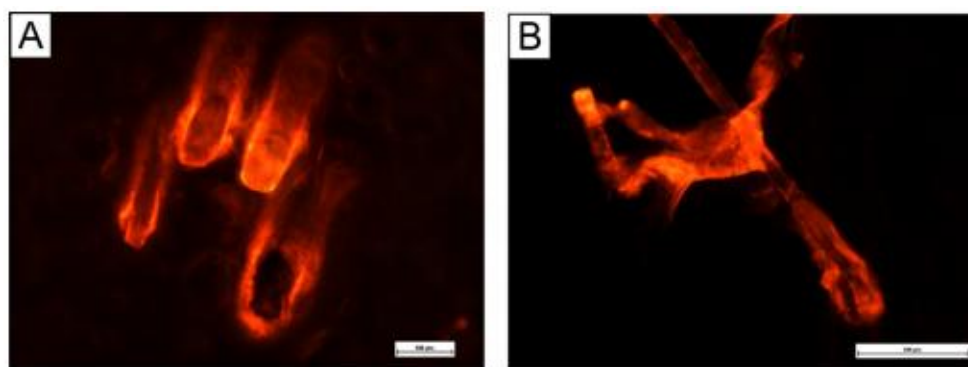


Figura 24. Imágenes de fluorescencia de Rojo de Nilo dentro del folículo piloso tras 5 minutos de penetración en cuero cabelludo humano en sección: **(A)** Vertical **(B)** Horizontal

La posibilidad de formar un copolímero e introducir nuevos grupos funcionales permite modificar algunas propiedades del material, como su carácter hidrófilo o su adhesividad, además de ajustar su degradación y propiedades mecánicas. Así mismo, la compatibilidad del PCL en mezclas con polisacáridos, PLA, quitosano y otros, posibilita también la mejora de las propiedades para ajustar el sistema a las necesidades del tratamiento (Chavalitpanya et al., 2013).

NPs de PCL se han estudiado para la aplicación de octil metoxicinamato, protector solar contra radiación UV-B. Los resultados sugieren que la formulación proporciona una mejor penetración del protector solar con un efecto sobre el estrato córneo (Alvarez-Roman et al., 2001), por lo que se potencia la protección solar con prevención del consecuente eritema inducido tras largas exposiciones al sol.

Estudios realizados con el principio activo tretinoína en NPs de PCL, demuestran una mayor protección frente a la fotodegradación. Así la solución control mostró una vida media de la tretinoína de 40 minutos frente a los 85-100 minutos de vida media de la molécula activa cargada en las NPs (2 veces mayor) (Ourique et al., 2008).

c) *Tirosina (TyroSpheres™)*

Este tipo de nanoesferas están compuestas a partir de polímeros derivados de la tirosina. Se utiliza un copolímero con estructura de bloque ABA. El bloque A, está compuesto por polietilenglicol y es de carácter hidrófilo, mientras que el bloque B compuesto por grupo diol derivado de la tirosina y ácido subérico, de carácter hidrófobo. (Sheihet et al., 2007)

En medio acuoso, estos copolímeros se ensamblan de manera espontánea formando las nanoesferas, con un tamaño en torno a 70 nm. La ausencia de citotoxicidad está demostrada a concentraciones menores de 2 mg/ml (Nardin et al., 2004). Una de las ventajas destacables es la posibilidad de elección de la forma farmacéutica más adecuada, ya sea formulación líquida (Sheihet et al., 2008) seca (Patel et al., 2015) o gel, más recomendado en la vía tópica (Batheja et al., 2011).

Tras estudios con compuestos hidrófobos (diaminofluoresceína) e hidrófilos (fluoresceína) se observa que la asociación de las nanoesferas con fármacos hidrófilos no resulta eficaz (Sheihet et al., 2011), por lo que son usadas para fármacos de carácter hidrófobo con los que pueden formar fuertes complejos, como ciclosporina A (Goyal y Kohn., 2015), sildenafilo, rolipram (Patel et al., 2015) y paclitaxel (PTX) (Sheihet et al., 2011).

Éste último fármaco ha sido estudiado para evaluar su potencial como tratamiento tópico al ser cargado en NPs derivadas de la tirosina, demostrando aumentar la solubilidad y controlar la liberación del PTX con una acumulación selectiva en la epidermis (Figura 25). Además, puede ser formulado en gel para aumentar el tiempo de contacto y facilitar su aplicación (Kilfoyle et al., 2011), demostrando el potencial de éste polímero en el desarrollo de tratamientos para la psoriasis.

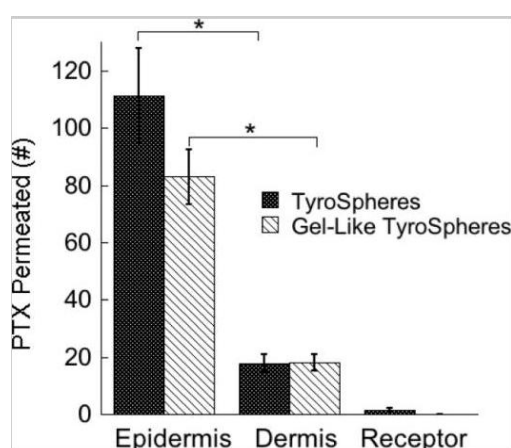


Figura 25. Cantidad de PTX liberado en epidermis y dermis, incluyendo la formulación en gel (rayado)

El perfil de liberación se ve afectado por parámetros como el tipo de fármaco cargado, la eficacia de la asociación fármaco-nanoesfera, el pH de la solución y la carga (Sheihet et al.,

2007), sugiriendo una mayor liberación a menor carga de fármaco, en estudios realizados con ciclosporina A (Goyal y Kohn., 2015). Se estima un tiempo de seis meses aproximado hasta la completa degradación de estos sistemas, causada mayoritariamente por hidrólisis de sus enlaces éster (Sheihet et al., 2008).

Las investigaciones de éstas NPs cargadas con vitamina D₃ confirman la estabilidad de la misma en la formulación tópica, al evitar tanto la hidrólisis como la fotodegradación (Ramenzali et al., 2017).

5.3.3 NPs de polímero sintético no biodegradable

a) Etilcelulosa

Éste polímero puede ser obtenido por reacción del cloruro de etilo con un álcali de celulosa, siendo el más estable de sus derivados. Se trata de un material con características aptas en aplicaciones farmacéuticas por su biocompatibilidad, ausencia de toxicidad y estabilidad química, además de no ser fotosensible ni termolábil. Sin embargo, es sensible a los ácidos. (Gallardo et al., 2001)

Presenta buena solubilidad en diversos disolventes (ésteres, alcoholes, hidrocarburos aromáticos, etc.), siendo insoluble en propilenglicol, agua y glicerina. (Gallardo et al., 2001) La formación de NPs de etilcelulosa tiene lugar a partir del polímero de celulosa preformado. Las NPs obtenidas presentan cierta polidispersión en la distribución de tamaños (Figura 25).

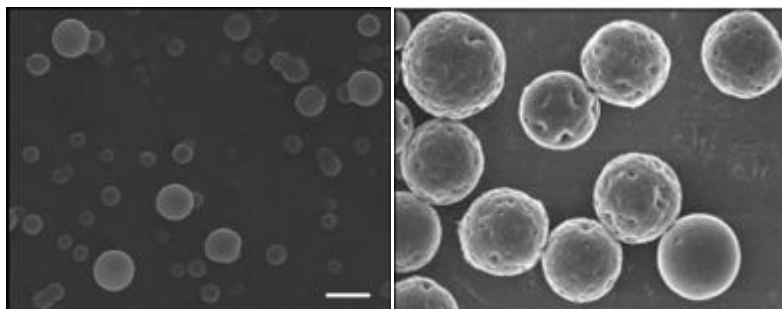


Figura 25. Microfotografía TEM y SEM de NPs de etilcelulosa, respectivamente

Hay presente gran variedad de investigaciones con diferentes fármacos vehiculizados por NPs de éste polímero, como el propranolol, ketoprofeno o betametasona, entre otros. NPs cargadas con el corticoide betametasona mostraron una mejora de la eficacia en estudios *in vitro* con respecto a una crema comercial del mismo, al tener una acumulación preferente en piel inflamada de folículos pilosos y glándulas sebáceas, con control sobre la liberación del fármaco y una tendencia de penetración 3 veces más profunda (Venkatesh et al., 2005).

b) Poliestireno

Obtenido por la polimerización del estireno, éste material es biocompatible y no presenta efectos adversos por interacciones con los sistemas biológicos. Las NPs de poliestireno se preparan mediante polimerización por emulsión. Su superficie puede ser modificada para obtener tamaños homogéneos, con un bajo índice de polidispersión (Loos et al., 2014).

Los estudios de administración tópicos de NPs de éste polímero no biodegradable reflejaron una acumulación mayoritaria y temporal en las aberturas foliculares, especialmente de las NPs más pequeñas. Además de ésta absorción folicular, se observó localización de las mismas en los surcos de la piel (Figura 26) (Álvarez-Roman et al., 2004)

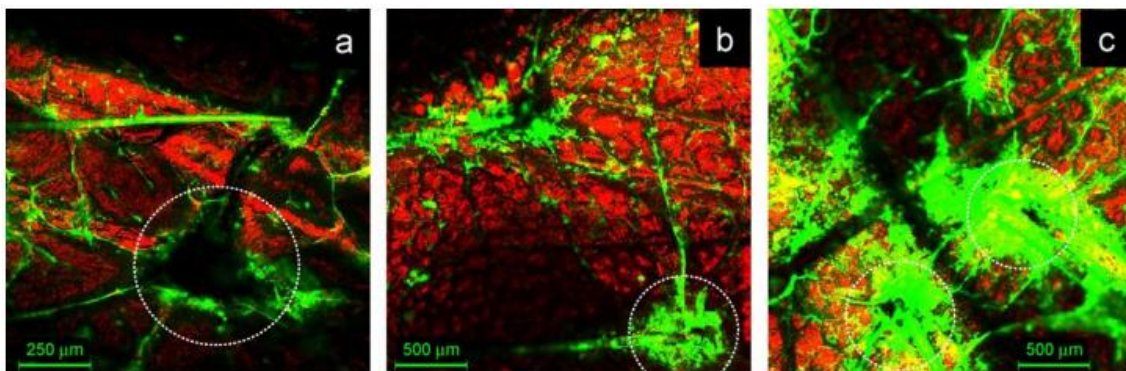


Figura 26. Imágenes de la localización de las NPs de poliestireno (fluorescente) con un tamaño de 20 nm tras su aplicación: **(a)** 30 min **(b)** 1 hora **(c)** 2 horas. Los círculos blancos señalan los folículos pilosos, donde observamos una acumulación preferente de las NPs.

6. CONCLUSIONES

- a. El gran número de estudios realizados en las últimas décadas ofrece clara evidencia del potencial que poseen las NPs poliméricas para la administración de fármacos a través de la barrera cutánea, con capacidad de aportar ventajas tales como:
 - la protección frente a la degradación de compuestos lábiles
 - la obtención de un perfil de liberación más prolongado
 - el aumento de la permeación a través del estrato córneo en la piel de partículas con un diámetro entre 20 y 200 nm
 - la liberación gradual del principio activo.
- b. La diversidad de métodos de preparación permite la elección del más adecuado (algunos con posibilidad de reducir el uso de reactivos tóxicos) para la encapsulación correcta del fármaco, cuya eficiencia tiene un gran impacto en la efectividad del tratamiento tópico posterior. Algunos de estos procesos, incluso son fácilmente escalables del laboratorio a

la industria. Los diferentes materiales poliméricos mencionados demuestran ser competentes, normalmente con una alta eficacia de encapsulamiento. Sin embargo, existen ciertas limitaciones en la obtención de tamaños de partículas uniforme.

- c. No hay duda del amplio margen de aplicaciones que las NPs poliméricas nos pueden llegar a ofrecer, por lo queda un largo camino en su investigación, siendo también necesario un mayor énfasis en el conocimiento de sus mecanismos de transporte a través de las capas de la piel.
- d. Los estudios mencionados nos aportan pruebas significativas de que éste área de investigación tiene un gran impacto en el desarrollo de nuevos productos, mejorando considerablemente la calidad de vida de los pacientes que padecen afecciones cutáneas.

7. BIBLIOGRAFÍA.

A.S. N Patel, M Dinizo, I Faiena, Ritu Goyal, Geun Taek Lee, Johanna L Hannan. Efficacy Of Rolipram Loaded Nanospheres In Localized Delivery To Sites Of Nerve Injury For Prevention Of Post-Prostatectomy Erectile Dysfunction Using A Rat Model Of Cavernous Nerve Injury, *J. of Uro*, 4 (2015) e766-e767.

Alvarez-Roman R, Barre G, Guy RH, Fessi H. Biodegradable polymer nanocapsules containing a sunscreen agent: preparation and photoprotection. *Eur J Pharm Biopharm*. 2001; 52:191–195

Alvarez-Roman.R , Naik. A, Kalia Y.N, Guy R.H, Fessi H. Skin penetration and distribution of polymeric nanoparticles. *J. Con. Rel*; (2004); 99; 53–62.

Amir D, Ebrahim VF, Mohammad I. Preparation of Chitosan Nanoparticles Loaded by Dexamethasone Sodium Phosphate. *Iranian J Pharma Sci* 2008; 4(2); 111-114.

Amol, T., Padmini, R., Polymeric Nanoparticles Based Topical Drug Delivery: An Overview. Department of Pharmaceutics, SVKM Bhanuben College of Pharmacy, 2018. 400-456.

Anton N; Benoit P; Saulnier P. Design and production of nanoparticles formulated from nan-emulsion templates. *J. Con.l Rel*. 2008; 128:185-99.

Antoniraj, M.G., Ayyavu, M., Henry, L.J.K., Rao, G.N., Natesan, S., Sundar, D.S., Kandasamy, R., Ariza Osorio, A.M. Sistemas transdérmicos: influencia del tipo de membrana en la transferencia del ácido salicílico a través de la piel. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid.

Bajpai, A., Choubey, J. In vitro release dynamics of an anticancer drug from swellable gelatin nanoparticles. *J. Appl. Polym. Sci*. 2006 101, 2320–2332

Batheja P, Sheihet L, Kohn J, Singer AJ, Michniak-Kohn B. Topical drug delivery by a polymeric nanosphere gel: Formulation optimization and in vitro and in vivo skin distribution studies. *J Con. Rel*. 2011; 149:159–167

Belabassi, Y., Moreau, J., Gheran, V., Henoumont, C., Robert, A., Callewaert, M. Synthesis and characterization of PEGylated and fluorinated chitosans: Application to the synthesis of targeted nanoparticles for drug delivery. *Biomac.* 18, 2756–2766.

Brandt, M. G., Moore, C. C. Nonmelanoma Skin Cancer. *Facial Plast. Surg. Clin North Am.* 2018, 27(1), 1-13

Busch, S., Schwarz, U., Kniep, R. Chemical and structural investigations of biomimetically grown fluorapatite – Gelatin composite aggregates. *Adv. Funct. Mater.* 2003 13 189–198.

Cardeal L., Jimenez, R., Contres, R., Ballavenuto J., Oliveira, R. Nanotechnology in dermatology. *An Bras. de Derma.* 2016; 89(1):126–36.

Carter P, Narasimhan B, Wang Q. Biocompatible nanoparticles and vesicular systems in transdermal drug delivery for various skin diseases. *Int J Pharm.* 2019 Jan 30; 555: 49-62.

Champeau, M., Vignoud, S., Mortier, L., Mordon, S. Therapy for skin cancer: How to enhance drug penetration? *J. of Photo Chem. Phot.*, Jul 2019; 197: 111-544

Chavalitpanya K, Phattanarudee S. Poly(lactic acid)/polycaprolactone blends compatibilized with block copolymer. *En. Proc. J.* 2013; 34, 542-8.

Antoniraj, M., Ayyavu M., Henry, L., Nageshwar G., Natesan, S., Sundar, D., Kandasay, R. Chitosan-graft-mPEG based 5-fluorouracil loaded polymeric nanoparticles for tumor targeted drug delivery. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2018: 44, 365-376

Coelho, F., Ferreira, C., Alves P, Cordeiro R, Fonseca AC, Góis JR. Drug delivery systems: Advanced technologies potentially applicable in personalized treatments. *EPMA J.* 2010; 1: 164-209.

Contri, R.V., Fiel, L.A., Alnasif, N., Pohlmann, A.R., Guterres, S.S., Schafer-Korting, M., Skin penetration and dermal tolerability of acrylic nanocapsules: influence of the surface charge and a chitosan gel used as vehicle. *Int. J. Pharm.* 2016, 507, 12-20.

De Campos, A., Sánchez, A., Alonso, M. Chitosan nanoparticles: a new vehicle for the improvement of the delivery of drugs to the ocular surface. Application to cyclosporin A. *Int J Pharm.* 2001, 14; 224 (1-2): 159-68.

D.N. Kapoor, A. Bhatia, R. Kaur, R. Sharma, G. Kaur, S. Dhawan PLGA: a unique polymer for drug delivery, *Ther Deliv*, 6 (2015) 41-58.

Dianzani, G.P. Zara, G. Maina, P. Pettazoni, S. Pizzimenti, F. Rossi, C.L. Gigliotti, E.S. Ciamporcerro, M. Daga, G. Barrera. Drug delivery nanoparticles in skin cancers, *BioMed Res Int.*, 2014 (2014) 895986.

Esther, S., Lluís Puig. Contact Dermatitis. Review. *Int J Environ Res Pub.*, 2011, Vol. 5 núm. 5. 40-44.

Faheem AS; Nasser AMB; Muzafar AK; Santosh A; Myung SK; Kim HK. Nanopartículas copoliméricas inteligentes y sus aplicaciones en biomedicina. *J. Mat. Sci Mater Med* 2009; 20:821-31.

Galindo-Rodriguez S, Allemann E, Fessi H, Doelker E. Physicochemical parameters associated with nanoparticle formation in the salting-out, emulsification-diffusion, and nanoprecipitation methods. *Pharm Res* 2005; 21; 1428-39.

Gallardo, V., García M., Ruíz, M. Design, Synthesis and Characterisation of Ethylcellulose Latex. *Macromol Chem Phys*. 2001, 202, 2412-2416.

Gharieh, A., Khoee, S., Mahdavian, A. Emulsion and miniemulsion techniques in preparation of polymer nanoparticles with versatile characteristics. *Adv in Col and Interf Sci*, 2019, 269: 152-186

Gilber R. *Emulsion Polymerization*. Ed. Academic Press, 2012.

Głowka E , ckowiak H.W , Hyla K , Stefanowska J , Bska K.J, Klapiszewski Ł, Jesionowski T, Cal K. Polymeric nanoparticle embedded organogel for roxithromycin delivery to hair follicles. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* (2014); 88; 75–84

Goyal, R., Kohn, J., Macri, L. Formulation Strategy for the Delivery of Cyclosporine A: Comparison of Two Polymeric Nanospheres. *Sci Rep*. 2015, 13; 5 130-165.

Gunatillake PA, Adhikari R. Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering. *Eur Cells Mater J* 2003;5:1-16.

H.S. Yoo, T.G. Kim, T.G. Park. Surface-functionalized electrospun nanofibers for tissue engineering and drug delivery, *Adv Drug Deliv Rev*, 61 (2009) 1033-1042.

H.Y. Cheng MH, Zhou HJ, Liu Z, Li JF. Rapid preparation and characterization of chitosan nanoparticles for oligonucleotide, *Curr Appl Phy*, 10 (2010) 797-800

Hasanovic A, Martin Z, Gottfried R and Claudia V. Chitosantripolyphosphate nanoparticles as a possible skin drug delivery system for aciclovir with enhanced stability. *J Pharm Pharmacol*. 2009 Dec; 61(12); 1609-16

Higuera-Ciapara, I., Toledo-Guillén, A.R. & Goycoolea F.M. Tendencias en propiedad intelectual y orientación de mercado para la quitina y quitosano. *Proceedings of the IV Iberoamerican Chitin Symposium*. Iberoamerican Chitin Society, Natal, Brasil. 2007

Hussain Z, Katas H, Amin M, Kumolosasi E, Buang F, Sahudin S. Self-assembled polymeric nanoparticles for percutaneous co-delivery of hydrocortisone/hydroxytyrosol: An ex vivo and in vivo study using an NC/Nga mouse model *Int. J. Pharm* (2013) ;444 ;109– 119

Isaac, M Transdermal patches: the emerging mode of drug delivery system in psychiatry. *Ther Adv Psycho* 2 (6): 255-263

J. Panyam, V. Labhassetwar. Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. *Adv Drug Deliv Rev*, 55 (2003) 329-347.

Jean, M., Alameh, M., De Jesus, D., Thibault, M., Lavertu, M., Darras, et al. Chitosan-based therapeutic nanoparticles for combination gene therapy and gene silencing of in vitro cell lines relevant to type 2 diabetes. *Eur J Pharm Sci*, 2012 Jan 23:45(1-2); 138-49.

Jose Morilla, M., Lilia Romero, E., Carrier deformability in drug delivery. *Curr. Pharm. Des.* 2016. 22, 1118-1134.

Kainthan RK, Muliawan EB, Hatzikiriakos SG, Brooks DE. Synthesis, characterization, and viscoelastic properties of high molecular weight hyperbranched polyglycerols. *Macrom.* 2006; 39:7708-17.

Kaloti, M., Bohidar, H.B. Kinetics of coacervation transition versus nanoparticle formation in chitosan–sodium tripolyphosphate solutions. *Colloids Surf. B.* 2010, 81, 165-173.

Karode SK; Kulkarni SS; Suresh AK; Mashelkar RA. New insights into kinetics and thermodynamics of interfacial polymerization. *Chem Eng Sci.* 1998; 53:2 649-63.

Kilfoyle BE, Sheihet L, Zhang Z, Laohoo M, Kohn J, Michniak-Kohn BB. Development of paclitaxel-TyroSpheres for topical skin treatment. *J Control Release.* 2012 in press. 10.1016

Lademann, J., Richter, H., Schanzer, S., Knorr, F., Meinke, M., Sterry, W., Patzelt, A. Penetration and storage of particles in human skin: perspectives and safety aspects. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2011 Jan 77, 465–468.

Lambert, G., Fattal, E., Couvreur, P. Nanoparticulate system for the delivery of antisense oligonucleotides. *Adv. Drug Delivery Review*, 2011 47, 99-112.

Lane, M.E . Skin penetration enhancers. *Inter J of Pharm*, 2013 447 (1-2), 12-21

Lee, B. K.; Yun, Y. & Park, K. PLA micro- and nano-particles. *Adv. Drug Delivery. Review*, 107:176-91, 2016.

Liang, X.W., Xu, Z.P., Grice, J., Zvyagin, A.V., Roberts, M.S., Liu, X., Penetration of nanoparticles into human skin. *Curr. Pharm. Des.* 2013, 19, 6353-6366.

Limayem, I., Charcosset, C., Sfar, S., Fessi, H. Preparation and characterization of spirinolactone-loaded nanocapsules for pediatric use. *Int. J. Pharm* 2006. 325, 124–131.

Liu D, Yang F, Xiong F, Gu N. The Smart Drug Delivery System and Its Clinical Potential. *Theranostics*, 2016, 6(9), 1306-1323.

Loos, C., Syrovets, T., Mysuanovych A., Mailander, V., Landfester, K., Ulrich, G., et al. Functionalized polystyrene nanoparticles as a platform for studying bio-nano interactions. *J Nanotech.* 2014, 5: 2403-2412.

M.D., Merzouki, A. Chitosan-based therapeutic nanoparticles for combination gene therapy and gene silencing of in vitro cell lines relevant to type 2 diabetes. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2012, 45, 138–149

Madelein, C., Urrejola L., Liliam V. Sistemas de nanopartículas poliméricas II: Estructura, métodos de elaboración, características, propiedades, bifuncionalización. *Int J morphol*, 2018, 36(4): 1463-1471

Marie-Alexandrine Bolzinger, Stéphanie Briançon, Jocelyne Pelletier, Yves Chevalier. Penetration of drugs through skin, a complex rate-controlling membrane. *Col and Inter Sci*, 2012; 17(3): 156–165.

Mishra, B., Patel, B.B., Tiwari, S. Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. *Nanomedicine*. 2010, (6) 9–24.

Mona M.A. Abdel-Mottaleb, Brice Moulari, Arnaud Beduneau , Yann Pellequer , Alf Lamprecht Nanoparticles enhance therapeutic outcome in inflamed skin therapy. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* (2012); 82; 151–157

Moser, K. Passive skin penetration enhancement and its quantification in vitro. *Eur J Pharm Biopharm*, 52(2), 103-112.

N. Kashyap, B. Viswanad, G. Sharma, V. Bhardwaj, P. Ramarao, M.N. Ravi Kumar. Design and evaluation of biodegradable, biosensitive in situ gelling system for pulsatile delivery of insulin, *Biomaterials*, 28 (2007) 2051-2060.

Ourique A.F, Pohlmann A.R., Guterres S.S, Beckd RCR. Tretinoin loaded nanocapsules: Preparation, physicochemical characterization, and photostability study. *Int. J. Pharm* (2008); 352; 1–4

Ozca, I et al. Enhanced dermal delivery of diflucortolone valerate using lecithina/chitosano nanoparticles: in-vitro and in vivo evaluations. *Int J Nanomed*. 2013; 8: 461-475

Park, J., Lee, H., Lim, G., Kim, N., Kim, D. Enhanced transdermal drug delivery by sonophoresis and simultaneous application of sonophoresis and iontophoresis. *AAPS Pharm Sci Tech*, Jan 2019; 20 (3): 96

Ahmed, T., Bader M. Preparation of nanoparticles composed of chitosan and its derivatives as delivery systems for macromolecules. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2007, 105: 552–561.

Prow, T.W., Grice, J.E., Lin, L.L., Faye, R., Butler, M., Becker, W., Wurm, E.M., Yoong, C., Robertson, T.A., Soyer, H.P., Roberts, M.S., Nanoparticles and microparticles for skin drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2011, 63, 470-491.

R.C. Mundargi, V.R. Babu, V. Rangaswamy, P. Patel, T.M. Aminabhavi. Nano/micro technologies for delivering macromolecular therapeutics using poly(D,L-lactide-co-glycolide) and its derivatives. *J Con Rel*. 125 (2008) 193-209.

Reis, C.P., Neufeld, R.J., Ribeiro, A.J., Veiga, F. Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine*. 2016, 2, 8–21.

Rinaudo, M. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. *Polym. Int.* 2008 57:3 97-430.

Ryman-Rasmussen, J.P., Riviere, J.E., Monteiro-Riviere, N.A. Penetration of intact skin by quantum dots with diverse physicochemical properties. *Toxicol. Sci.*, 2006, 91, 159-1657

Saboktakin, M.R., Tabatabaie, R.M., Maharramov, A., Ramazanov, M.A. Synthesis and in vitro evaluation of carboxymethyl starch–chitosan nanoparticles as drug delivery system to the colon. *Int. J. Biol. Macromol.* 2011, 48: 381–385.

Sabri, A. H., Ogilvie, J., Abdulhamid, K., Shpadaruk, V., McKenna, J., Segal. Expanding the applications of microneedles in dermatology. *Eur J Pharm Biopharm.* Jun 2019, 23(2): 256-259

Salata, O. Applications of nanoparticles in biology and medicine. *J Nanobiotechnology*. 2014; 2:3

Santhi K, Venkatesh D N, Dhanaraj S A, Sangeetha S and Suresh B. Development and in-vitro Evaluation of a Topical Drug Delivery System Containing Betamethazone Loaded Ethyl Cellulose Nanospheres. *Trop. J. Pharm. Res.* December 2005; 4 (2): 495-500

Scott C, Wu D, Co CC. Liquid-core capsules via interfacial polymerization: a free-radical analogy of the nylon rope trick. *Journal Chemistry*, 2005; 127; 4160–1.

Senyigit, T., Lecithin/quitosano nanoparticles of clobetasol-17-propionate capable of accumulation in pig skin. *J Cont Rel.* 2010; 142: 368-272

Shah P, Desai P, Patel A, and Singh M. Skin permeating nanogel for the cutaneous co-delivery of two anti-inflammatory drugs. *NIH Publ.* 2012, 33(5): 1607–1617

Sheihet L, Garbuzenko OB, Bushman J, Gounder MK, Minko T, Kohn J. Paclitaxel in tyrosinederived nanospheres as a potential anti-cancer agent: In vivo evaluation of toxicity and efficacy in comparison with paclitaxel in Cremophor. *Eur J Pharm Sci.* 2012; 45:320–329

Sheihet L, Piotrowska K, Dubin RA, Kohn J, Devore D. Effect of tyrosine-derived triblock copolymer compositions on nanosphere self-assembly and drug delivery. *Biomacromolecules.* 2007; 8:998–1003

Siddique, M.I In-vivo dermal pharmacokinetics, efficacy, and safety of skin targeting nanoparticles for corticosteroid treatment of atopic dermatitis. *Int J Pharm*, 2006

Stracke, F, Weiss, B., Lehr, C., König, U., Schaefer, F., Schneider, M. *J. Invest. Dermatol.* 126 (2006) 2224.

Subramanian, A., Rau, A.V., Kaligotla, H. Surface modification of chitosan for selective surface–protein interaction, *Carbohydr. Polym.* 2006, 66: 321–332.

- Sun, Y., Wan, A.J. Development of chitosan nanoparticles as drug delivery systems for 5-fluorouracil and leucovorin blends. *Carb Pol.* 2011, 85: 698-704.
- T. Ramezanli, B.E. Kilfoyle, Z. Zhang, B.B. Michniak-Kohn. Polymeric nanospheres for topical delivery of vitamin D3, *Int. J. Pharm.* 516 (2017) 196–203.
- T.K. Dash, V.B. Konkimalla. Poly-epsilon-caprolactone based formulations for drug delivery and tissue engineering: A review. *J Con Rel.* 2012, 158 (2012) 15-33.
- Tomoda K, Terashima H, Suzuki K, Inagi T, Terada H, Makino K. Enhanced transdermal delivery of indomethacin-loaded PLGA nanoparticles by iontophoresis. *Col Surf B Bio.* 2011; 88:706–710
- Upadhyay, R. Drug delivery systems, CNS protection, and the blood brain barrier. *Biomed Rest Int*, 2014.
- Vandervoort J, Ludwig A. Preparation and evaluation of drugloaded gelatin nanoparticles for topical ophthalmic use. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* (2004); 57; 251–261.
- Vega E, Egeaa M. A, GardunoRamírez M. L, Elena Sánchez M. L, Espinaa M. Flurbiprofen PLGA-PEG nanospheres: Role of hydroxy- β -cyclodextrin on ex vivo human skin permeation and in vivo topical anti-inflammatory efficacy. *Colloids Surf. B* (2013); 110; 339– 346
- Wang, Z.W. Zeng, R.Z. Xiao, T. Xie, G.L. Zhou, X.R. Zhan, S.L. Wang. Recent advances of chitosan nanoparticles as drug carriers, *Int J Nanom.* 2011, 6: 765-774
- Wei X, Gong C, Gou M, Fu S, Guo Q, Shi S, Luo F, Guo G, Qiu L, Qian Z. Biodegradable poly(ϵ caprolactone)–poly(ethylene glycol) copolymers as drug delivery system. *Int J Pharm* 2009, 381:1
- Wu M; Dellacherie E; Durand A; Marie E. Poly(n-butyl cyanacrylate nanoparticles via miniemulsion polymerization. *Col Surf B.* 2009; 69:147-51.
- Zhang Z, Tsai PC, Ramezanli T, Michniak-Kohn BB. Polymeric nanoparticles-based topical delivery systems for the treatment of dermatological diseases. *Rev Nanomed Nanobiotechnol.* 2013 May-Jun; 5(3): 205-18.
- Zohri, M. Polymeric NanoParticles: Production, Applications and Advantage. *Internet J. Nanotechnology.* 2009 3, 1-14.