

DISEÑO Y EVALUACIÓN DE PARTÍCULAS POLIMÉRICAS COMO VEHÍCULOS PARA EL ENCAPSULAMIENTO Y LIBERACIÓN DE FÁRMACOS

Karina N. González R.^{1,2*}, González V. Gema^{3,4}, Edgar Catari¹, Marcos A. Sabino G.⁵

¹ Laboratorio de Polímeros. Centro de Química “Dr. Gabriel Chuchani”. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas, Venezuela.

² Unidad de Química Medicinal. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

³ Escuela de Física y Nanotecnología, Universidad Yachay Tech. Ecuador.

⁴ Centro de Ingeniería de Materiales y Nanotecnología, Laboratorio de Materiales. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas, Venezuela.

⁵ Grupo B⁵IDA. Departamento de Química. Universidad Simón Bolívar.

Autores de Correspondencia: *karina.gonzalez@ucv.ve, **msabino@usb.ve

Recibido: Agosto de 2024 Aceptado: Septiembre de 2024

RESUMEN

La encapsulación es una metodología versátil para controlar la liberación de los fármacos, debido a que un fármaco encapsulado presenta ventajas de dosificación con respecto a otras formas de administración y forma parte de la nanotecnología para el suministro de fármacos. Asimismo, se ha convertido en una alternativa útil para desarrollar sistemas novedosos y complejos como es la liberación de péptidos y proteínas. Entre los biomateriales, aquellos de naturaleza polimérica ganan sobre las cerámicas y metales sobre la versatilidad de formas y protocolos para este tipo de encapsulamiento. Es así, como la polimerización interfacial, el secado por atomización y la evaporación de solvente, han sido las más estudiadas. En función de la precisión del método, se pueden obtener partículas tanto en la escala micro como nanométricas, principalmente enfocadas en las técnicas de emulsificación. Este artículo de revisión ofrece información actualizada acerca de los sistemas micro y nanoparticulados poliméricos aplicados en la liberación controlada de fármacos; las principales técnicas para encapsularlos; los parámetros para caracterizar dichos sistemas y por último las aplicaciones médicas de tales sistemas en tratamiento de enfermedades como cáncer, como sistemas vectores de péptidos y proteínas, en la terapia anticoagulante y en el tratamiento de las enfermedades endémicas.

Palabras Claves: encapsulación, liberación controlada, fármacos, micro-nanopartículas, polímeros.

ABSTRACT

Encapsulation is a versatile methodology to control drug release, since an encapsulated drug has dosing advantages over other forms of administration and is part of nanotechnology for drug delivery. It has also become a useful alternative for developing novel and complex systems such as the release of peptides and proteins. Among the biomaterials, those of polymeric nature gain over ceramics and metals on the versatility of forms and protocols for this type of encapsulation. Thus, interfacial polymerization, spray drying and solvent evaporation have been the most studied. Depending on the precision of the method, it is possible to obtain particles in the micro and nanometer scale, mainly focused on emulsification techniques. This review article provides updated information about polymeric micro- and nanoparticulate systems applied in the controlled release of drugs; the main techniques to encapsulate them; the parameters to characterize such systems and finally the medical applications of such systems in the treatment of diseases such as cancer, as peptide and protein vector systems, in anticoagulant therapy and in the treatment of endemic diseases.

Keywords: encapsulation, controlled release, drugs, micro-nanoparticles, polymers.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Formas farmacéuticas de liberación modificada de fármacos

El diseño y aplicación de sistemas de dosificación controlada de medicamentos y los sistemas de dirección localizada de la actividad de un determinado fármaco es actualmente uno de los aspectos de mayor relevancia en el desarrollo de nuevas formas de medicación. La utilización de materiales poliméricos como soportes de fármacos para regular y dosificar su liberación en aplicaciones específicas es una perspectiva que ha adquirido gran interés [1]–[3].

La Farmacopea de los Estados Unidos[4], [5] describe a las formas farmacéuticas de liberación modificada de fármacos (FLM) como: “aquellas en las cuales se eligen las características de la liberación en el curso del tiempo y/o en la localización para lograr objetivos terapéuticos o de conveniencia que no ofrecen las formas farmacéuticas convencionales”.

Las FLM se han desarrollado para administrar el fármaco en la parte del cuerpo donde se absorberá, simplificar los programas de dosificación y garantizar que la concentración del fármaco se mantenga durante un intervalo de tiempo adecuado. Estas propiedades no son características de las formas convencionales de dosificación, tales como soluciones, ungüentos, o formas de dosificación de rápida disolución, etc. La USP reconoce dos tipos de liberación modificada: la liberación controlada y la liberación retardada[6].

Las formas farmacéuticas de liberación retardadas son aquellas que han sido modificadas para retrasar la liberación de la sustancia o sustancias activas. La liberación retardada se consigue por una formulación particular y por un método de fabricación especial. Estas incluyen preparaciones gastrorresistentes, por ejemplo, tabletas con recubrimiento entérico. También se le denomina liberación lenta[6], [7].

En un sistema de liberación controlada, el principio activo es incorporado a un soporte, la velocidad de liberación de la sustancia activa desde dicho sistema al medio que la rodea, viene determinada por las propiedades del material de soporte y, en menor medida, depende de los factores ambientales, como pueden ser el pH, la temperatura y los fluidos del organismo. Por ello, los sistemas de liberación controlada deben ser capaces de permitir la administración de sustancias bioactivas de una forma lenta y continua durante períodos prolongados de tiempo[1], [6].

Los sistemas de liberación controlada de fármacos representan un sector de crecimiento dentro del mercado farmacéutico que alcanzó los 54.32 billones de US\$ en el año 2023 y se espera que alcance los 110.13 billones de dólares en el año 2030, con una tasa de crecimiento anual compuesta (CAGR) del 10,6 % durante el período de pronóstico[8]. Estos por sí mismos no son terapias, pero mejoran la eficacia y seguridad de los fármacos que vehiculizan ya que la manera en la que el fármaco se libera en el organismo es tan importante como el fármaco en sí.

Actualmente la tecnología implicada en la liberación de fármacos mueve un 14% del mercado farmacéutico[9], [10]. El crecimiento del mercado se debe a una serie de factores, entre los que se incluyen[8]:

-El aumento de la prevalencia de enfermedades crónicas, como la diabetes, la hipertensión y el cáncer.

-La creciente demanda de sistemas de administración de fármacos más eficaces y seguros.
-El desarrollo de nuevas tecnologías de liberación controlada de fármacos.

La encapsulación es una metodología versátil para controlar la liberación de los fármacos, debido a que un fármaco encapsulado presenta ventajas de dosificación con respecto a otras formas de administración. Entre las ventajas más comunes se encuentran la disminución de los efectos secundarios, para mejorar la biodisponibilidad oral, para sostener el efecto de fármacos o genes en un tejido seleccionado, para solubilizar fármacos para una administración intravascular y para mejorar la estabilidad de los agentes terapéuticos contra la degradación enzimática de las nucleasas y proteasas, especialmente en el caso de los fármacos en forma de proteínas, péptidos y ácidos nucleicos[11].

Muchas moléculas activas encapsuladas se han comercializadas en el mercado farmacéutico, incluidas las anticancerígenas (p. ej., doxorubicina, paclitaxel, vincristina), hormonales (leuprolida), antiparasitarios/antifúngicos (anfotericina) o analgésicos (morphina). Sin embargo, la producción de formulaciones con altas eficiencias de encapsulación de bioactivos sigue siendo un gran reto[12], [13].

En esta perspectiva, fabricar sistemas micro y nanoparticulados capaces de ser vehículos dentro del sistema biológico de un fármaco y que sean biocompatibles y biodegradables se convierte en un reto.

Existen diversos tipos de partículas empleadas en la administración de medicamentos, pudiendo ser de naturaleza polimérica, silícea, metálica, entre otras. Dentro de estos materiales destacan los polímeros, debido a su naturaleza fisicoquímica y propiedades de funcionalización con ligandos específicos para ser reconocidos por receptores sobreexpresados en la superficie de determinadas células[14], [15].

Los materiales poliméricos empleados en medicina incluyen tanto polímeros sintéticos como naturales, polímeros o con modificaciones químicas[16], [17]. Estas modificaciones se hacen para mejorar la biocompatibilidad, degradabilidad, o para introducir otras propiedades deseadas. También se suelen conjugar químicamente con los fármacos modificando eficazmente las características bioquímicas y farmacológicas del medicamento. La permeabilidad de los materiales poliméricos puede ser modificada y controlada [18]. En el caso de las matrices poliméricas, en función de su tamaño, se pueden clasificar en micropartículas y nanopartículas (Véase la Figura 1).

1.2. Sistemas de partículas a escala micrométrica

El concepto de micropartículas como sistemas de encapsulación se remonta a 1932, con los trabajos del químico holandés H.G. Bungenberg de Jong sobre el origen de la vida[19]. Las micropartículas son partículas esféricas poliméricas con tamaños que oscilan desde 1 a 250 μm (idealmente diámetros $< 125 \mu\text{m}$) y dentro de este grupo se incluyen las microcápsulas y las microesferas. Las microcápsulas son sistemas vesiculares en los que el fármaco está confinado en una cavidad rodeada de una única membrana polimérica; y las microesferas que son sistemas matrices en los que el fármaco está disperso en la partícula[18].

Las microesferas fueron introducidas a mediados de 1970. Son partículas esféricas sin una distinción entre cubierta y núcleo y con un tamaño de partícula entre una y varias

decenas de micras. Tienen una estructura monolítica, el fármaco queda incorporado dentro de una matriz polimérica, preparada a partir de materiales biocompatibles y con un gran espectro de velocidades de cesión y propiedades degradativas.

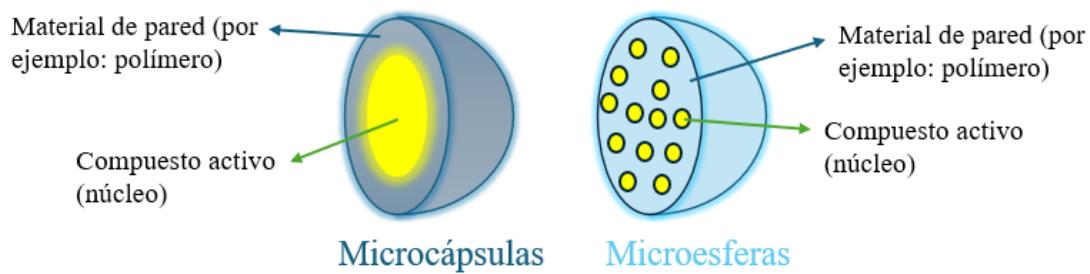


Figura 1. Esquema de una microcápsula y una microesfera.

En 1970, W.M. Holliday y colaboradores patentaron el primer uso de micropartículas en la industria farmacéutica, como una composición de liberación sostenida administrada por vía oral que consistía en ácido acetilsalicílico encapsulado dentro de una fina capa continua de etilcelulosa. Esta novedosa composición farmacéutica permitía la liberación gradual del ácido acetilsalicílico en la sangre mediante un mecanismo de difusión durante un periodo de 4h tras la administración oral y proporcionaba 8h de alivio analgésico. También sirvió como estrategia para reducir el efecto irritante del ácido acetilsalicílico sobre la mucosa gástrica, reducir la frecuencia de administración y mejorar el cumplimiento terapéutico del paciente[20].

1.3. Sistemas de partículas a escala nanométrica

Cuando hablamos de nanopartículas entramos en el área de la nanotecnología que es el área del conocimiento que trata acerca del saber y el control de la materia en dimensiones cercanas al intervalo de 1 a 1000 nanómetros (para el caso de los materiales poliméricos que son generalmente de alto peso molecular)(REF), en esta escala la materia o materiales muestran características y aplicaciones nuevas a las ya tradicionales o conocidas. Para materiales de naturaleza metálica o cerámica, las dimensiones de estas partículas se consideran que es entre 1-100 nm [19], porque con estos materiales se pueden lograr estos tamaños más pequeños dado que no se trata de macromoléculas como lo son los polímeros.

La utilización de nanopartículas es una importante área de la investigación en el campo de la liberación de fármacos, ya que estos sistemas permiten dirigir una amplia variedad de moléculas a los distintos tejidos liberándolos de manera sostenida en el tiempo. Además, el uso de nanopartículas minimiza la degradación del principio activo, incrementa su tiempo de vida media en el interior del órgano a tratar y disminuye su toxicidad.

Las nanopartículas orgánicas están hechas de proteínas, carbohidratos, lípidos, polímeros, o cualquier otro compuesto orgánico; los ejemplos más destacados de esta clase son los dendrímeros, los liposomas, las micro y nanopartículas, las micelas y los complejos proteicos como la ferritina.

Las nanopartículas como sistemas engloban a las nanocápsulas y las nanoesferas similar que en el caso de los sistemas microparticulados [21]. Las nanocápsulas son sistemas vesiculares en los que el fármaco se localiza generalmente en el interior de la partícula, ya que están formados por un reservorio interno y generalmente disuelto en un vehículo

oleoso. Las nanoesferas, en cambio, son sistemas de tipo matricial donde el fármaco se suele encontrar encapsulado de forma uniforme en el interior de la matriz; aunque dependiendo de la naturaleza del fármaco también pudiera localizarse en el exterior. El esquema de las nanocápsulas y nanoesferas es similar que en el caso de la Figura 1 y con distribución de tamaño nanométrico [21].

Dentro de la nanotecnología nos enfocamos en la nanomedicina, que se define como la aplicación de las nanotecnologías a la medicina. Es considerada una disciplina interfacial entre ambos campos, y no una subespecialidad de ninguna de ellas. Abarca las áreas terapéuticas (liberación controlada, ingeniería de tejidos), nanotoxicología, nano diagnóstico y aspectos regulatorios[22].

La nanotecnología farmacéutica se enfoca al desarrollo de formulaciones de agentes terapéuticos en nanocomplejos biocompatibles entre los que se cuentan las nanopartículas, las nanocápsulas, los sistemas micelares, los dendrímeros, los fulerenos o nanoestructuras de carbono, los nanocomponentes derivados de la bioimitación o biomimética y los productos conjugados derivados de los anteriores[11], [23].

La Comisión Europea recomendó la definición de nanomaterial en el año 2011 como aquel que contiene una distribución de tamaño del 50% de las partículas, menor a 100 nm, incluyendo constituyentes particulados en aglomerados y agregados[24]. La definición análoga de la Organización Internacional de Normalización (ISO), ISO/TS 80004-1, se basa bajo el mismo criterio, pero no considera un número de porcentaje[25], [26]. Sin embargo, es importante aclarar, que en el área de farmacia y específicamente cuando se trabaja con materiales poliméricos que tienen elevada masa molecular, se definen las nanopartículas poliméricas como partículas de tamaño comprendido entre 1-1000 nm, generalmente entre 10 y 500 nm [21], [27]–[33].

1.4. Diseño de micropartículas y nanopartículas a partir de materiales poliméricos

Las micro y nanopartículas poliméricas pueden dividirse en dos grandes grupos [34].

- *Micro y nanopartículas constituidas por polímeros sintéticos:* se han obtenido micro y nanosistemas por polimerización interfacial, en los casos de moléculas hidrofóbicas y algunas hidrosolubles. Se han empleado los siguientes agentes como material de recubrimiento: poli-alquil cianoacrilato (PACA)[35], poli-ε-caprolactona (PCL)[36], ácido poliláctico (PLA)[37], polietilenglicol (PEG)[38], poli (hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) (PHBV)[39], [40], poli(metil metacrilato, (PMMA)[41], poli(metacrilato,PMA)[42], entre otros[43].

Otros polímeros acrílicos que se han empleado en la formulación de micro y nanocápsulas son los Eudragit®[44], compuestos a base de polimetacrilatos, que responden fisicoquímicamente a cambios de pH, lo que puede ser empleado en la mejora de la biodisponibilidad de fármacos tras su administración por vía oral.

Se ha empleado la técnica de pegilación empleando copolímeros tales como: PEG-PCL, PEG-PLA, entre otros[45], [46]. También se han preparado nanocápsulas empleando los copolímeros formados por unidades monoméricas de ácido láctico y glicólico (PLGA)[47] y ácido poliláctico-hidroximetil-glicólico (PLHMGA)[48]. La técnica empleada para la obtención de estos sistemas permite que el polímero oriente las parte

hidrofóbicas hacia el núcleo oleoso, mientras que las cadenas de PEG se disponen en la superficie.

- *Micro y nanopartículas de biopolímeros:* polímeros naturales como los polisacáridos han sido ampliamente empleados para la formación de micro y nanopartículas, mediante la técnica de deposición interfacial se han preparado nanocápsulas de quitosano.

También se han propuesto métodos alternativos que prevén la formación de una nanoemulsión y la incubación de la misma en una solución de quitosano. Esta técnica ha permitido obtener nanopartículas de PEG-quitosano. En este caso el PEG está orientado hacia la fase externa mientras que el quitosano debido a su naturaleza catiónica tiende a asociarse las gotículas cargadas negativamente disponiéndose en la parte más interna.

Asimismo, se han desarrollado nanopartículas constituidas por ácido hialurónico para la administración IV de fármacos antitumorales[49], [50].

Dentro de este grupo se incluyen las nanopartículas lipídicas (LNC), estos sistemas consisten un núcleo oleoso rodeado por un ligero recubrimiento a base de PEG-hidroxiestearato. Dichas nanopartículas pueden ser preparadas por medio de un novedoso método de inversión de fase, libre de solventes.

2. Técnicas de encapsulamiento de fármacos

Se pueden emplear diversos procesos en la preparación de micro- y nanopartículas, las diferencias radican en el tamaño que se desea obtener y en variantes del proceso.

Se han de tener presentes una serie de consideraciones farmacéuticas en el desarrollo de estos sistemas de liberación controlada: 1. Tipo de material, 2. Ruta de preparación, 3. Tamaño de las partículas, 4. Cantidad de fármaco incorporado, 5. Carga, 6. Fármaco liberado (*in vivo* e *in vitro*), 7. Estabilidad del fármaco, 8. Estabilidad del sistema de liberación, 9. Efecto del almacenamiento, 10. Propiedades de la superficie, 11. Presentación, 12. Antigenicidad, 13. Biofase y toxicidad del sistema de liberación, 14. Fármaco y biocinética del sistema de liberación[2], [51], [52].

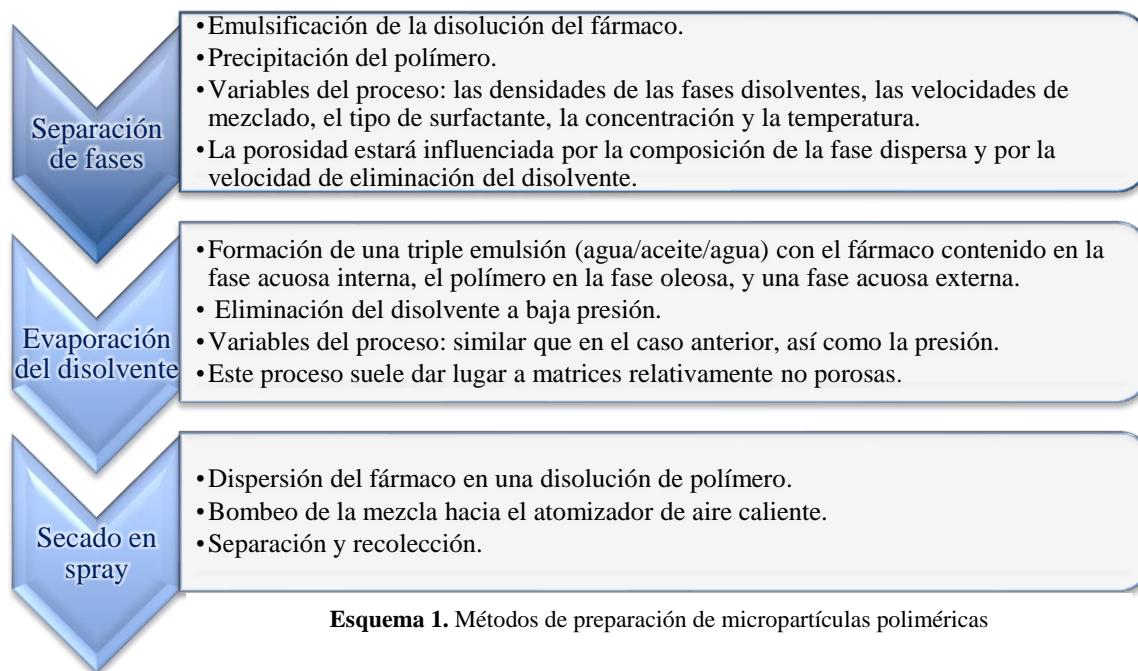
2.1. Métodos de preparación de micropartículas poliméricas

Los tres procesos más frecuentemente utilizados son la separación de fases, la evaporación del disolvente y el secado en *spray* (Véase Esquema 1).

El proceso de separación de fases requiere la emulsificación de la disolución de fármaco, o la suspensión de las partículas del fármaco en una disolución de polímero biodegradable. La adición de un segundo polímero causa la precipitación del primero en forma de gotas líquidas o partículas sólidas. La compactación de las microesferas se consigue por la adición de un agente precipitante. Existen muchas variables de proceso en este método que deben ser caracterizadas y controladas para obtener un producto final satisfactorio. El tamaño estará determinado por las densidades de las fases disolventes, las velocidades de mezclado, el tipo de surfactante, la concentración y la temperatura. La porosidad estará influenciada por la composición de la fase dispersa y por la velocidad de eliminación del disolvente.

En los procesos de evaporación del disolvente se forma una triple emulsión (agua/aceite/agua) con el fármaco contenido en la fase acuosa interna, el polímero en un disolvente orgánico en la fase oleosa, y una fase acuosa externa. El disolvente es eliminado a baja presión (y normalmente a baja temperatura) para aumentar la viscosidad de la fase interna, seguida del aislamiento de las microesferas. Las variables del proceso, del mismo modo que en el caso anterior, deben controlarse, así como la presión durante la evaporación. Este proceso suele dar lugar a matrices relativamente no porosas.

El proceso de secado *spray* o por aspersión, para la preparación de micropartículas poliméricas, consiste en dispersar el fármaco, ya sea en disolución acuosa o en forma de partículas sólidas, en una solución de polímero disuelto en un disolvente adecuado. Esta mezcla se bombea a través de un atomizador en un secador por aspersión, donde las gotas se exponen a un flujo de aire caliente que provoca la rápida evaporación del disolvente, generando micropartículas secas que son posteriormente separadas y recolectadas. [2], [51], [52].



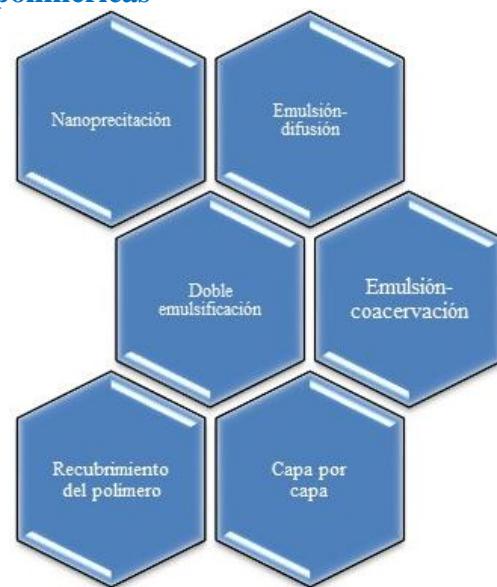
Esquema 1. Métodos de preparación de micropartículas poliméricas

2.2. Métodos de preparación de nanopartículas poliméricas

Durante las últimas décadas, se han desarrollado varias técnicas para la formulación de nanopartículas. Su fabricación ha evolucionado principalmente en tres aspectos: [53]–[55]

- i) Búsqueda de componentes menos tóxicos
- ii) Simplificación del proceso para fabricación a nivel industrial; y
- iii) Optimización de las técnicas en cuanto a rendimiento y eficacia de encapsulación.

Han sido desarrollados muchos métodos para la producción de las nanopartículas y están basados en diferentes principios físico químicos, estos son[53], [56]:



1) **Nanoprecipitación:** El método nanoprecipitación también se denomina desplazamiento del disolvente o deposición interfacial. En este proceso, el polímero, el fármaco, y, de manera opcional, un estabilizante lipofílico se disuelve en un disolvente polar miscible en agua, como acetona o etanol, lo cual constituye la fase orgánica. Esta solución se adiciona sobre la fase acuosa bajo agitación magnética. A medida que se adiciona la fase acuosa se provoca la insolubilización del polímero, el cual precipita. Generalmente, la fase acuosa está constituida por una solución acuosa que contiene un agente estabilizante, por ejemplo, polivinil alcohol (PVA), polivinilpirrolidona (PVP) o poloxámero 188. Las nanopartículas se forman instantáneamente por una rápida difusión del disolvente al medio acuoso, que se elimina posteriormente de la suspensión sometiéndola a presión reducida (Véase la Figura 2) [57], [58].

El proceso de formación de las nanocápsulas comprende tres etapas: Nucleación, Crecimiento, Agregación.

El mecanismo de formación de las partículas por este método se explica por las turbulencias interfaciales que se generan durante la sustitución del disolvente. Ocurre una difusión violenta debida a la miscibilidad de los disolventes. Las gotículas de disolvente, de tamaño nanométrico, son eliminadas de la interface.

Las variables claves del procedimiento son las:

- Condiciones de agitación de la fase orgánica a la fase acuosa, tiempo de inyección, velocidad de agitación, método de adición y relación de fase.
- Concentración y naturaleza de los componentes.

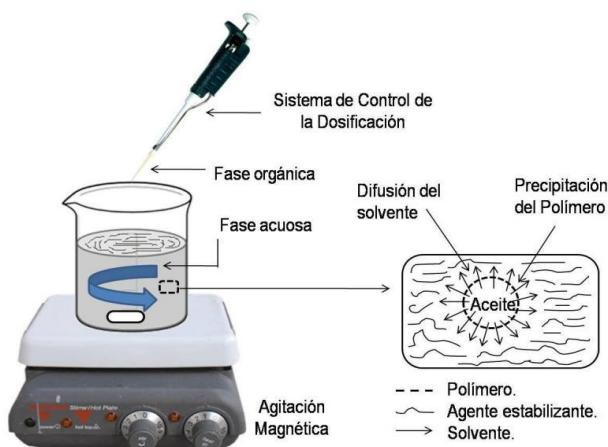


Figura 2. Preparación de nanopartículas por el método de nanoprecipitación. Modificado de [56].

El tamaño de las partículas y el rendimiento de fabricación se ven afectados por la concentración del polímero. Generalmente se usan concentraciones entre 1% y 10% (m/v) de polímero.

2) **Emulsión – difusión:** este método permite la nanoencapsulación de sustancias de naturaleza lipofílica e hidrofílica. El procedimiento comprende tres fases: una orgánica, una acuosa y una dilución[59].

Los polímeros comúnmente empleados son los poliésteres biodegradables, tales como los polímeros sintéticos: PCL, PLA, PHBV y Eudragit.

En la preparación de las nanocápsulas usando el método de emulsión-difusión, la fase orgánica es emulsificada empleando agitación vigorosa en la fase acuosa (Véase la Figura 3). La posterior adición de agua en el sistema causa la difusión del solvente en la fase externa promoviendo la formación de las nanocápsulas. El solvente puede ser eliminado por destilación dependiendo del punto de ebullición del mismo.

El mecanismo de formación de las nanocápsulas se basa en que cada gota de la emulsión produce varias nanocápsulas debido a la combinación de los procesos de la precipitación del polímero y los fenómenos interfaciales durante la difusión del solvente.



Figura 3. Preparación de nanopartículas por el método de emulsión-difusión. Modificado de [56].

En el grupo de investigación B⁵IDA de la Universidad Simón Bolívar (USB) en Venezuela, se ha estandarizado un método basado en el principio fisicoquímico de la

emulsión-difusión y basado en la técnica de Vanderhood [60] y al cual se le han hecho algunas mejoras en cuanto al procedimiento y con lo cual nos ha permitido obtener micropartículas y nanopartículas poliméricas.

La preparación se llevó a cabo siguiendo el método de microemulsificación [60], que consiste en tomar una fase acuosa con un agente estabilizante, a la que se le agrega el polímero disuelto en algún solvente orgánico apropiado, bajo agitación controlada. En base a este protocolo, se emplea como fase acuosa agua con una solución al 0,25% de PVA como agente surfantante/estabilizante y el polímero se disuelve separadamente en cloroformo junto con el fármaco o derivado activo que se desee encapsular manteniéndose bajo agitación controlada en un reactor de vidrio con aletas internas, introducido en un ultrasonido y empleando un ultramicrodispersor. El tiempo de goteo de la solución orgánica a la solución acuosa es de 120 minutos. Una vez terminado el proceso de goteo, se deja cada sistema bajo agitación magnética por 24 horas y a temperatura ambiente con el fin de evaporar el cloroformo y lograr la precipitación de todas las partículas formadas. Luego de esto, la solución fue centrifugada y las partículas sedimentadas son debidamente lavadas con agua desionizada, para su posterior liofilización.

Esta metodología ha permitido obtener tamaños de partículas poliméricas en escala nanométrica[27]–[29].

3) **Doble emulsificación:** las emulsiones dobles son sistemas heterodispersos complejos llamados “emulsiones de emulsiones” y pueden ser clasificados en dos grandes grupos: emulsiones agua-aceite-agua (w/o/w) y emulsiones aceite-agua-aceite (o/w/o)[61].

Las emulsiones dobles son usualmente preparadas en un proceso de emulsificación de dos pasos usando dos surfactantes: uno hidrofóbico, diseñado para estabilizar la interface de la emulsión interna w/o y uno hidrofílico, empleado para estabilizar la interface externa de los glóbulos de aceite, para las emulsiones w/o/w.

El principio de la formación de la doble emulsión aplicado a la preparación de las nanocápsulas, específicamente del tipo w/o/w, está asociado con los principios que gobiernan los métodos de nanoprecipitación y de emulsión-difusión. En este caso, el aceite en la emulsión primaria del tipo w/o es cambiado por una fase orgánica que contiene: un solvente que es parcial o totalmente miscible en agua, el polímero que forma la película y un surfactante w/o. A continuación, el agua que contiene un agente estabilizante se añade al sistema para obtener agua en la fase orgánica en la emulsión acuosa. Sin embargo, en este paso, el endurecimiento de las partículas se obtiene a través de la difusión del disolvente y la precipitación de polímero. Con frecuencia se le añade agua a la doble emulsión con la finalidad de lograr la difusión completa del solvente (Véase la Figura 4).

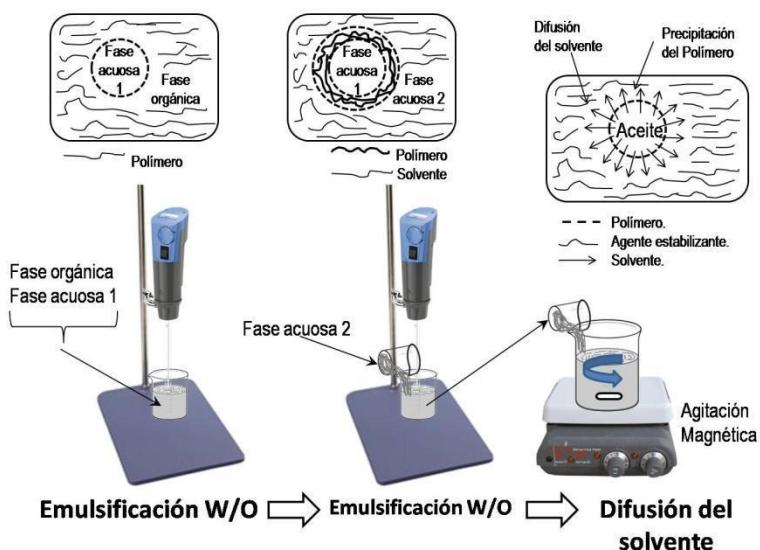


Figura 4. Preparación de nanopartículas por el método de doble emulsificación. Modificado de [56].

Los surfactantes juegan un rol dual en las emulsiones: para formar la capa que sirve de barrera para liberar al fármaco en la fase interna y como un estabilizador estérico de la fase externa.

En el procedimiento para la preparación de las nanopartículas por el método de doble emulsificación, se forma la emulsión primaria por ultrasonido y los surfactantes del tipo w/o estabilizan la interface de la emulsión interna w/o. La segunda emulsión también se forma por ultrasonido y la dispersión de las nanopartículas se estabiliza por el añadido de un agente estabilizante. Finalmente, los solventes son removidos por evaporación o por extracción al vacío, y quedan las nanopartículas endurecidas en el medio acuoso. Como fue mencionado previamente, como paso opcional, se puede diluir la dispersión de las nanopartículas previo a la extracción en vacío con el fin de permitir la difusión completa del solvente.

4) **Emulsión- coacervación:** el proceso de emulsión-coacervación se presenta como una estrategia para la preparación de nanopartículas con materiales poliméricos de origen natural. El procedimiento involucra la emulsificación o/w de una fase orgánica (el aceite, la sustancia activa y el solvente de la sustancia activa si es necesario) con una fase acuosa (agua, polímero y agente estabilizante) mediante agitación mecánica o ultrasonido. Posteriormente, se lleva a cabo el proceso de coacervación mediante el uso de un sistema de electrolitos tales como: alginato de sodio- cloruro de calcio, empleando un agente deshidratante miscible en agua junto a un sistema de gelatina-isopropanol-sulfato de sodio o por modificación de la temperatura con aplicación de un polímero tribloque. Finalmente, el proceso de coacervación es complementado con un paso adicional de entrecruzamiento lo cual permite obtener la estructura rígida de la nanocápsula (Véase la Figura 5)[62].

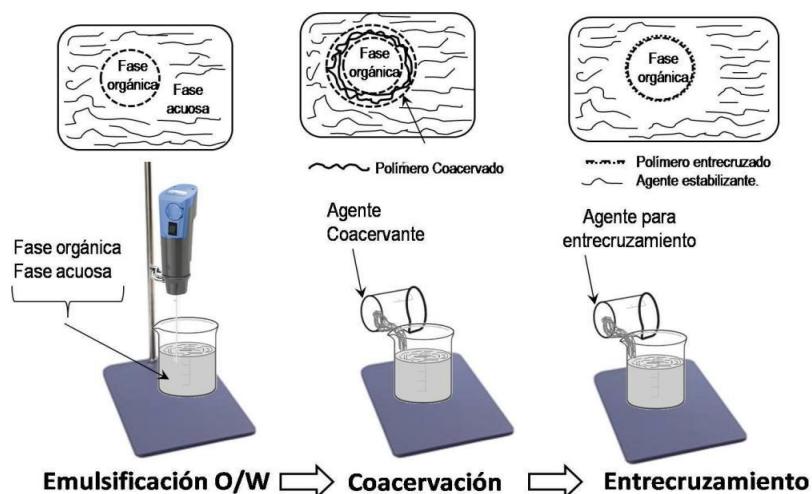


Figura 5. Preparación de nanopartículas por el método de emulsión- coacervación. Modificado de [56].

Probablemente la etapa crítica en la preparación de las nanopartículas por el método de emulsión- coacervación es la fase de la formación del coacervado. El polímero disuelto en agua es solvatado por las moléculas de agua y forma interacciones de puente de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals. Los agentes coacervantes disminuyen la solvatación de los polímeros disueltos e inducen la formación de la capa de solvatación y también permiten la formación del entrecruzamiento.

5) **Recubrimiento con polímero:** este método se basa en depositar una delgada capa del polímero sobre la superficie de la nanopartícula. Esto puede lograrse mediante la adsorción del polímero sobre las nanopartículas preformadas, sin recubrimiento, al ser incubadas en una dispersión del polímero bajo condiciones determinadas de tiempo y agitación[50], [63].

De igual manera, el recubrimiento con el polímero se puede realizar durante la etapa final de los métodos convencionales, antes mencionados, el de nanoprecipitación y la doble emulsificación. En este caso, los métodos se modifican con el fin de añadir una capa de polímero al medio acuoso externo y se logra la formación simultánea de una capa debido a la precipitación del polímero cargado (principalmente de naturaleza negativa) y a la difusión del disolvente.

Por otra parte, se ha probado un método de recubrimiento del polímero que consiste en preparar primero una nanoemulsión y luego cubrir con una deposición del polímero sobre la superficie de la nanoemulsión agua/aceite. Los polímeros son añadidos en la fase continua y se produce la precipitación de estos sobre las gotas de la nanoemulsión por evaporación del solvente, a diferencia del método de emulsión- coacervación.

Bajo este método se ha encapsulado calcitonina de salmón usando quitosano y quitosano-PEG. En este procedimiento se inicia con una fase orgánica que contiene la sustancia activa, el aceite, el surfactante (lecitina) y acetona como solvente; se emplea una fase acuosa que contiene el agente estabilizante y una solución acuosa que contiene el polímero para recubrimiento. Se mezclan las fases orgánica y acuosa con agitación moderada y se forma la nanoemulsión o/w por desplazamiento del solvente. Posteriormente se evaporar los solventes mediante destilación al vacío hasta alcanzar un

volumen específico y finalmente la nanoemulsión es recubierta por el polímero por simple incubación en la solución de dicho polímero (Véase la Figura 6).

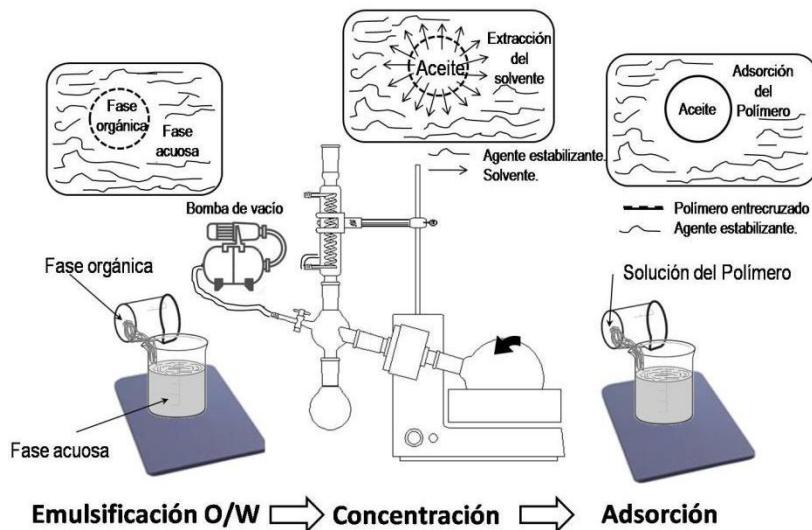


Figura 6. Preparación de nanopartículas por el método de recubrimiento con polímero. Modificado de [56].

6) **Capa por capa:** este método se basa en un proceso de atracción electrostática irreversible que conlleva a la adsorción de polielectrolitos en la matriz en concentración de supersaturación de polielectrolitos. Este método requiere de un soporte coloidal sobre el cual es adsorbida la capa del polímero ya sea por incubación en la solución del polímero, que posteriormente es lavado, o por la disminución de la solubilidad del polímero debido a la adición gota a gota de un disolvente miscible. Este procedimiento es repetido con un segundo polímero y son depositadas secuencialmente múltiples capas del polímero, una después de otra[64].

Del mismo modo, se puede realizar la adsorción de polielectrolitos con cargas opuestas sobre la superficie de las partículas coloidales con la posterior disolución del núcleo. Las nanopartículas vacías se pueden cargar posteriormente con la sustancia de interés.

Por otra parte, se han realizado modificaciones a esta metodología que consiste en, primero, preparar una emulsión por homogeneización a alta presión que contiene almidón modificado (almidón modificado con anhídrido octenil succínico) y el aceite. El almidón modificado cumple doble función, es usado como emulsificante de la fase oleosa y contribuye a la formación de la primera capa de polielectrolito cargado negativamente. Luego, se añade bajo agitación la segunda solución de polielectrolito y cuando se termina el proceso de adsorción, se inyecta en el sistema una tercera solución de polielectrolito bajo las mismas condiciones. Una vez que la adición de polielectrolito ha finalizado, se homogeniza la dispersión de las nanopartículas a alta presión y finalmente se centrifuga. (Véase la Figura 7).

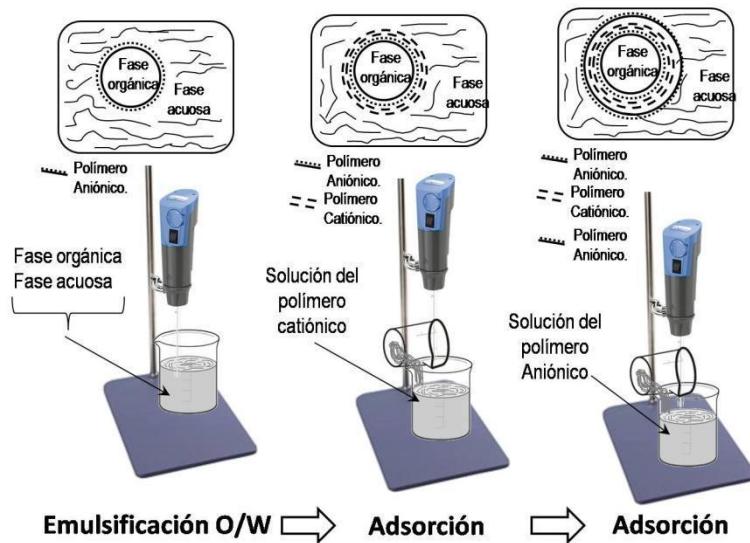


Figura 7. Preparación de nanopartículas por el método de capa por capa. Modificado de [56].

Como ha sido reportado en diferentes trabajos de investigación, en este método se emplean polícations tales como: polilisina[59], quitosano[65], gelatina B[66], poli (alilamina, PPA,[67]), polietilenimina (PEI, [68] amino dextrano y sulfato de protamina ([69]). También se han empleado los siguientes polianiones: sulfonato de poliestireno (PS,[70]), alginato de sodio[71], ácido poliacrílico[72], sulfato dextrano[73] carboximetilcelulosa, ácido hialurónico[74], gelatina A[75], condroitin[76] y heparina [77].

La clave del ensamblaje capa por capa yace en la necesidad de recargar la superficie en cada paso de adsorción. Las moléculas empleadas para el ensamblaje deben tener un adecuado número de grupos cargados que puedan proporcionar una adsorción estable sobre una superficie opuesta cargada y además unas cargas no compensadas expuestas hacia el exterior. Sin embargo, teniendo en cuenta las consideraciones energéticas, no se puede excluir la posibilidad que la adsorción secuencial de los siguientes polielectrolitos pueda remover al contríon depositado previamente en lugar de adsorber.

2.2.1. Consideraciones de las nanopartículas poliméricas como sistemas de liberación de fármaco

Es importante considerar algunas propiedades de las nanopartículas una vez que han sido elaboradas y que están relacionadas con el método de preparación; estas propiedades se refieren al tamaño, la potencial zeta, el pH, el espesor, la eficiencia de la encapsulación, el perfil de liberación del fármaco y la estabilidad *in vivo* e *in vitro*, entre otras[78]. La liberación del fármaco tiene lugar a través de varias rutas, entre las cuales se pueden citar: la erosión de la superficie, la total desintegración, difusión, y una combinación de difusión y erosión o degradación [18], [30]–[33].

- El tamaño de las nanopartículas:* el tamaño promedio de las nanopartículas poliméricas oscila entre 250 y 500 nm, se presentan excepciones en los métodos donde se realiza incubación del fármaco, tales como en los métodos de doble emulsificación y capa por capa. Sin embargo, aun en estos casos es posible obtener un tamaño menor de partícula si se emplea ultrasonido en los pasos iniciales del procedimiento[79].
- El potencial zeta:* el potencial zeta de las nanopartículas se utiliza comúnmente para caracterizar la carga superficial de ellas. Refleja el potencial eléctrico de las

partículas y depende de la composición de la partícula y el medio en el que se dispersa. Las nanopartículas con un potencial zeta por encima de ± 30 mV han demostrado ser estables en suspensión, ya que la carga superficial evita la agregación de las partículas[80].

El potencial zeta de las nanopartículas depende de la naturaleza química del polímero, del agente estabilizante y del pH del medio. Por lo tanto, cuando se preparan nanopartículas a partir de polímeros de poliéster o derivados de metacrilato, empleando agentes estabilizantes del tipo no iónicos, se obtienen valores de potencia zeta negativos debido a la presencia de los grupos funcionales carboxílicos terminales de los polímeros empleados. Del mismo modo, se obtienen valores de potencia zeta positivo cuando se emplean polímeros catiónicos y agentes estabilizantes no iónicos[81].

- c) *pH de la dispersión de las nanopartículas*: en términos generales, los valores de pH oscilan entre 3,0 a 7,5 para las dispersiones preparadas por los métodos de nanoprecipitación, emulsión-difusión o capa por capa. Como se mencionó anteriormente, el pH de la dispersión determina el potencial zeta y puede tener un impacto en su estabilidad. Adicionalmente, ha sido estudiado que el pH del medio de dispersión parece ser un factor clave que controla el tamaño de las nanopartículas y por tanto su biodistribución[82].
- d) *Espesor de la cobertura de las nanopartículas*: en el caso de las nanopartículas con cubierta polimérica, juega un papel preponderante el espesor en la protección del principio activo y, probablemente, en el perfil de liberación. De acuerdo con diferentes autores, los valores de espesor de la cubierta son de aproximadamente 10 nm y 20 nm cuando se selecciona PCL como polímero empleando el método de nanoprecipitación y de 10 nm cuando se elige PLGA[56].

En el caso de las nanopartículas preparadas por el método de emulsión- difusión tenido se han reportado valores de espesor de la cubierta entre 1,5 y 2 nm. En cuanto a grosor de la cubierta de las nanopartículas preparadas por el método capa por capa, que depende del número de capas, va a depender de las condiciones para la preparación. En consecuencia, el valor estimado está entre 1.5 y 1.7 nm por bicapa de poliacetato / polianión en estado seco[83].

- e) *Eficiencia de la encapsulación de las nanopartículas*: en base a los estudios realizados actualmente los métodos de nanoprecipitación, emulsión- difusión y capa por capa dan los mejores resultados para la encapsulación de las nanopartículas (80% o más). En el caso del método de capa por capa, se garantiza una alta eficiencia de encapsulación. Sin embargo, para los métodos de nanoprecipitación y de emulsión- difusión, existen diferentes factores determinantes de la eficiencia de encapsulación de fármacos, por ejemplo: la naturaleza química activa del fármaco y su polaridad en particular. En este sentido, los fármacos hidrófilos pueden alcanzar valores máximos de 10% y en el caso de compuestos lipófilos se ha observado una gran eficiencia de la encapsulación (superior al 70%).

En cuanto al método de doble emulsión, se ha observado un rango de eficiencia de la encapsulación de 65% al 75%. Este parámetro puede también ser influenciado tanto por el polímero como por los tensoactivos empleados[84].

Mediante el método de microemulsificación con algunas modificaciones operativas realizadas por el grupo de investigación de Sabino et al. se ha logrado obtener valores de encapsulación por encima del 90% en la mayoría de los casos. Vease Tabla 1.

Tabla 1. Investigaciones relativas a matrices poliméricas empleadas como liberadores de fármacos

Autor(es)	Breve descripción	% de encapsulación	Fuente bibliográfica
Romero, A.; Aguilera, E.; Sabino, M.; González, G.; González, K.; Medina, E.	Liberación controlada de micro-nanopartículas poliméricas de derivados del tipo triazolo-ftalazinas con actividad antichagásica.	89-99%	[85]
González Karina	Liberación controlada de micro-nanopartículas poliméricas de derivados del 4-aminoquinolinas con actividad leishmanicida y antichagásica.	92-99%	[86]
González R Karina N, González Gema, Rodrígues Juan, Marques Kruzkaya, Vázquez Ana Sofía y Sabino G Marcos.	Encapsulación de derivados de sulfanil – sulfonil chalconas en sistemas micro-nanoparticulados poliméricos de PDLA con aplicación de liberación controlada.	99%	[87]
González Karina.	Preparación de micro-nanopartículas de PDLA para liberación controlada de la 1,4-naftoquinona	98,3%	[86]
González K.N, González G, Sabino M.A	Preparación de sistemas micro y nanoparticulados en base a poliesteres biodegradables para el encapsulamiento y liberación de hirudina	--	[88]
Yubexi Correa, Marcos Antonio Sabino	Modificación química del alginato con L-cisteína para extender su uso en sistemas de administración de medicamentos	78%	[89]

f) *Estabilidad de las nanopartículas*: existen muchos factores combinados que pueden afectar la estabilidad de las nanopartículas, tales como: la composición, los parámetros utilizados en el método de preparación, las condiciones de almacenamiento[90].

El almacenamiento de la dispersión de las nanopartículas en condiciones de alta temperatura (por encima de 40 °C) afecta a la estabilidad del sistema. Probablemente debido a debilidad de la estructura polimérica, lo que facilita la migración de la sustancia activa a partir del aceite núcleo interno.

2.3. Modificación superficial de las partículas

Este procedimiento se refiere a la alteración intencional y el procesamiento de la capa más externa de una nanopartícula mediante métodos de procesamiento físicos y químicos. Esto permite controlar la tensión interna, aumentar la fuerza repulsiva entre las nanopartículas, reducir la atracción gravitatoria entre las partículas y modificar deliberadamente las propiedades fisicoquímicas de la superficie (morfología, estructura cristalina, estado de defectos, estado de tensión, energía superficial del grupo funcional, hidrofobicidad superficial, humectabilidad superficial, potencial superficial, características de adsorción y reacción superficial, etc.). Estas modificaciones otorgan a la nanopartícula nuevas funcionalidades, optimizar y permiten adaptarlas a las necesidades de procesamiento y aplicación de nanomateriales[91], [92].

Las superficies de las partículas poliméricas pueden ser hidrofóbicas o hidrofílicas, propiedad que condiciona que las proteínas sean adsorbidas o no por la superficie del material en cuestión, lo cual está directamente relacionado con la tolerancia del organismo al material polimérico, es decir, influye en la biocompatibilidad. Por esta razón, se debe tomar en cuenta la naturaleza de las reacciones que tienen lugar en la interface y también de su topografía.

Por lo general, los materiales poliméricos hidrofílicos se toleran mejor que los hidrofóbicos, teniendo en cuenta que la superficie del material es el área que estará en contacto con las células o con el tejido es necesario realizar en algunos casos modificaciones superficiales que promuevan una mayor hidrofilicidad. De igual manera en el proceso de encapsulación del fármaco, en muchos casos se hace necesario realizar modificaciones superficiales que promuevan una mayor unión a los grupos funcionales del fármaco en cuestión[93], [94].

En cuanto a la modificación de la superficie de las partículas se debe realizar aquella que permita conocer y controlar el tipo de grupo funcional que se injerta. Las técnicas más utilizadas son: a) activación vía plasma, b) modificación química (por ejemplo, tratamientos para la generación de grupos peróxidos), c) funcionalización o “grafting” y d) combinación de los métodos anteriores [95], [96]. A continuación, se detalla brevemente acerca de estos métodos:

a) La activación vía plasma: mediante la activación por plasma se crean espacios en la superficie con radicales en los cuales reaccionan productos, por ejemplo, un fármaco que se desee encapsular en la superficie, facilitando enormemente la adhesión de superficies no reactivas. El tratamiento de activación superficial con plasma es sumamente rápido, efectivo y económico.

Los gases se pueden emplear para la activación de superficies por plasma son:

- Plasma de Argón (Ar). Se elimina continuamente átomos individuales de la superficie por impacto. Los sitios radicales que quedan son altamente reactivos. Luego se realiza una exposición al aire para la generación de grupos peróxidos. Existen algunas variantes de este método:
 - Plasma de Ar/NH₂: Luego se realiza una exposición al aire para la generación de grupos -NH₂ y -NO₂.
 - Plasma de Ar/O₂: Luego se realiza una exposición al aire para la generación de grupos peróxidos.
- Plasma de Oxígeno (O₂). Los polímeros adquieren funcionalidades superficiales nuevas que invierten por completo la polaridad de materiales. Las soluciones acuosas con tensión superficial elevada se extienden sobre la superficie activada con ángulos de contacto muy pequeños.
- Plasma de Hidrógeno (H₂). Reduce las capas de óxido superficiales formadas sobre partes electrónicas. La superficie metálica queda limpia y reactiva para procesos de unión química.

b) Modificación química: se realiza procesos de oxidación de la superficie para formación de grupos peróxidos, hidroxilos, etc., mediante el añadido de agentes oxidantes, tales como: KMnO₄ en medio acido empleando HNO₃, el uso de H₂O₂/(NH₄)₂S₂O₈.

c) Funcionalización: existen dos variantes de este método, a saber:

- Activación química:
 - Mediante el añadido de KMnO₄/H₂SO₄, H₂O₂/(NH₄)₂S₂O₈
 - *Fotografting* a través de radiación UV o visible.
 - En solución usando iniciadores radicales (Peróxido de benzoilo, compuestos azo AIBN) y adición de monómeros.
- Activación por plasma:
Irradiación por plasma (Ar, Ar/O₂ o Ar/N₂) y luego inmersión en solución con monómero.

d) Combinación de métodos: en algunos casos se ha logrado mejores resultados al hacer combinaciones de métodos o variantes de los mismos, por ejemplo: realizar una modificación química mediante la oxidación con H₂O₂ con temperatura y combinarlo con radiación UV.

3. Técnicas de caracterización de las partículas

Una vez sintetizada las macropartículas y nanopartículas otro aspecto importante es la caracterización físico-química prestando especial atención a la morfología y a la polaridad de su superficie. Entre las técnicas más importantes tenemos: Espectroscopia Infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) [56], Espectroscopia Ultravioleta-Visible (UV), Microscopía electrónica de barrido (MEB)[97], Microscopía electrónica de Transmisión (MET)[98], [99], Microscopía de Fuerza Atómica (AFM)[100], microscopía confocal[101], entre otros.

En cuanto a caracterización de índole biológico, con el fin de evaluar la posible citotoxicidad de las micropartículas y nanopartículas se realizan estudios de la supervivencia y proliferación celular *in vitro*. Esto permite evaluar la respuesta de una población celular a factores externos y se emplea con frecuencia para determinar el efecto tóxico de un compuesto que se desea emplear con fines terapéuticos [102].

De igual manera, en el proceso de encapsulación hay que asegurar que se alcanza un nivel deseado de esterilización. En el proceso aséptico, los componentes individuales empleados se esterilizan, por lo que las actividades de procesado y empaquetamiento ocurren bajo condiciones controladas y asépticas. Los procesos de esterilización terminal se realizan al final, para eliminar restos de contaminación microbiológica[18].

4. Aplicaciones

Las aplicaciones que se pueden dar son numerosas, en esta revisión, se van a considerar solo los aspectos de mayor relevancia o de mayor circulación informativa.

4.1. Importancia del uso de micro-nanopartículas poliméricas en la terapia del cáncer

Las nanopartículas poliméricas se han aplicado en diversas terapias, entre estas destaca el tratamiento del cáncer debido a las limitaciones de los tratamientos actuales en cuanto a la falta de especificidad de los fármacos tradicionales y los fenómenos de resistencia que suelen ocurrir tras repetidas administraciones[103].

En el caso de la terapia del cáncer las estrategias adoptadas hasta el momento para conseguir la orientación y acumulación de los nanomedicamentos en las células tumorales se han basado en dos mecanismos diferenciados: el denominado direccionamiento o vehiculización pasivo y el direccionamiento activo[21], [78].

El direccionamiento pasivo consiste en el transporte de nanosistemas por simple convección a través de espacios intracelulares hacia el intersticio tumoral y su posterior acumulación en estos tejidos. Este efecto, se fundamenta en la fisiología característica del endotelio de los capilares del tumor, cuyas células se encuentran frecuentemente separadas por espacios de entre 200 y 600 nm, permitiendo así el paso de nanoestructuras a través de ellas (Figura 8).

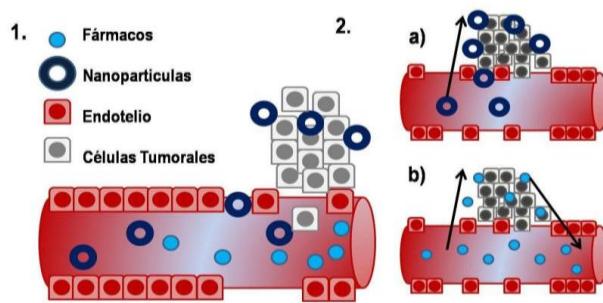


Figura 8. Representación esquemática del mecanismo de biodistribución selectiva por el efecto de permeabilidad y retención incrementado. En éste tipo de biodistribución selectiva los nanomedicamentos (nanosistema con fármaco asociado) y también los fármacos atraviesan fácilmente el endotelio de los vasos sanguíneos que irrigan el tumor debido a la existencia de grandes espacios en los mismos (1), los nanomedicamentos son retenidos debido a la pobre irrigación linfática (2a), mientras que los fármacos vuelven a circulación (2b), (Modificado de [78])

Actualmente existen formulaciones de nanopartículas que se encuentran aprobados por la FDA y que se basan en la estrategia de direccionamiento pasivo, entre los que se encuentran el abraxane®, es un sistema a base de nanopartículas de albumina, diseñado para la vehiculización del paclitaxel[104], [105]. De igual manera, se encuentra aprobado por la FDA para su uso en humanos y está indicado para el tratamiento del cáncer de

mama metastático. Este sistema ha demostrado una mayor eficacia comparado con el medicamento tradicional para esta terapia, el Taxol®.

Esta eficacia se asocia a la posibilidad de administrar mayores dosis de paclitaxel evitando los efectos secundarios causados por los excipientes de los tratamientos actuales, por ejemplo, el Cremophor®, aceite de ricino pegilado, en el Taxol®. Por otro lado, estudios han demostrado que la albumina también juega un papel agonista en la efectividad del paclitaxel, debido a su interacción con dos proteínas en circulación sanguínea. Una de las proteínas es la gp60, localizada en la superficie del endotelio vascular, la cual facilita la acumulación de las nanopartículas en el fluido intersticial del tumor. La segunda es la osteonectina o SPARC (siglas en inglés de proteína secretada, acida y rica en cisteína) que se encuentra en la superficie de una gran variedad de células tumorales e interacciona con la albúmina provocando la acumulación de las nanopartículas en las células tumorales[106].

Otro de los grandes avances en la clínica de las nanopartículas lo representa el Livatag® (tecnología Transdrug®), un sistema nanoparticulado a base de poli-isocianoacrilatos diseñado para la vehiculización de doxorubicina. Éste sistema actualmente en ensayos clínicos fase II ha mostrado la capacidad de aumentar significativamente la supervivencia en pacientes con carcinoma hepatocelular, en comparación a la conseguida con el tratamiento clásico de quimioembolización[107].

El direccionamiento activo hace referencia a la orientación activa del nanomedicamento, y no sólo una simple acumulación en los tejidos tumorales, motivada por su marcada especificidad hacia las células diana. Ésta especificidad se ha conseguido a través de procesos de reconocimiento celular aprovechando la sobreexpresión de varios tipos de receptores en la superficie de las células tumorales (Figura 9).

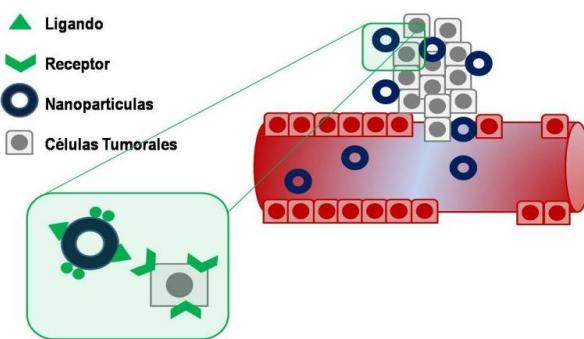


Figura 9. Biodistribución activa. Representación esquemática del mecanismo del direccionamiento activo, mediante el cual el nanomedicamento puede liberar el fármaco selectivamente en el tejido tumoral. La figura muestra la funcionalización del nanomedicamento con ligandos específicos a receptores sobreexpresados en las células tumorales (Modificado de [78]).

El ejemplo más frecuente de moléculas de bajo peso molecular es el ácido fólico, sustrato principal del receptor folato, sobre-expresado en una gran cantidad de células tumorales como en el caso del cáncer ovárico. Asimismo, un ejemplo de macromolécula es el ácido hialurónico (AH), sustrato principal del receptor CD44, sobre-expresado en una gran variedad de células tumorales, como en el ovárico, de estómago, de colon y varios tipos de leucemias. Además de brindar propiedades de “direcciónamiento”, el AH aporta propiedades escudo a los sistemas en que se ha empleado[108].

De igual manera, existen formulaciones poliméricas basadas en direccionamiento activo aprobadas por la FDA, tal como el PEG-Asys® empleado para el tratamiento de melanoma y carcinoma renal.

Se han empleado en la formulación de nanopartículas otros polímeros acrílicos a base de polimetacrilatos, tal como Eudragit, con el objetivo de mejorar la biodisponibilidad de fármacos tras su administración por vía oral, en este sentido el grupo de Nassar y col. realizaron el estudio de un novedoso sistema de doble recubrimiento de nanopartículas para liberación de tacrolimus, un fármaco inmunosupresor, que permita superar las barreras bioquímicas (bomba de glicoproteína P y el citocromo CYP3A) sin afectar su actividad fisiológica[109]. Así como el empleo de micropartículas poliméricas de PLHMG para la liberación controlada y local de anticuerpos inmunomoduladores en la inmunoterapia del cáncer[48].

Asimismo, se ha buscado modificar las propiedades de la superficie de las nanopartículas dependiendo de los propósitos terapéuticos. Es posible obtener nanocápsulas pegiladas utilizando copolímeros como el PEG-PCL, el PEG-PLA o el PEG-PLGA. A este respecto el grupo de Mosqueira y col. realizaron el estudio de la farmacocinética y la biodistribución de nanopartículas cuyas superficies contienen PEG-PLA, a fin de investigar la influencia de la cadena de PEG. La técnica empleada para la obtención de estos sistemas permite que el polímero oriente la parte hidrofóbica hacia el núcleo oleoso, mientras que las cadenas de PEG se disponen en la superficie. Se observan diferencias significativas en los parámetros farmacocinéticas en la liberación de las nanopartículas que presentan solo una cubierta polimérica con respecto a las nanopartículas pegiladas[110].

Una de las estrategias de PEGilación que merece ser destacada por su importancia es la del primer conjugado polímero- proteína, el Oncaspar®, comercializado en 1994, consiste en la unión covalente del enzima L-asparaginasa a una cadena de PEG. El Oncaspar® está indicado como tratamiento de primera línea en pacientes con leucemia linfoblástica. Mediante la conjugación del enzima se consiguió aumentar su tiempo de vida media pasando de horas a días, disminuyendo así la frecuencia de la administración. Además, la PEGilación permitió disminuir las reacciones de hipersensibilidad de la L-asparaginasa[111].

Nanopartículas de PLGA son ampliamente explorados como vehículos para entrega controlada de agentes terapéuticos macromoleculares, tales como proteínas, péptidos, vacunas, genes, antígenos, factores de crecimiento, etc[112]. En el apartado 4.2 se describen algunas aplicaciones de sistemas portadores de péptidos y proteínas.

Se han empleado nanopartículas poliméricas en la terapia fotodinámica contra el cáncer[113], lo cual es una tecnología médica, aprobada por la FDA, que usa láseres para activar fármacos fotosensibles para tratar el cáncer y otras enfermedades por un medio no quirúrgico y de mínima invasividad. La terapia fotodinámica requiere tres componentes: una sustancia química fotosensible llamada PS, una fuente de luz (lámpara, láser, diodo emisor de luz [LED]) y oxígeno molecular (O_2) intracelular.

Hay muchas maneras de modificar los PS: por ejemplo, acoplándolos con agentes de entrega dentro de liposomas, micelas, nanopartículas de sílice, nanopartículas de oro y nanopartículas de polímeros.

Igualmente se han empleado micropartículas y nanopartículas poliméricas como portadores teranósticos, sistemas nanométricos diseñados para combinar dos funciones clave en la medicina moderna: diagnóstico y tratamiento. Estos sistemas integran agentes terapéuticos y de diagnóstico en una única plataforma, lo que permite la administración simultánea de medicamentos y la monitorización del estado de la enfermedad. Por ejemplo, se han investigado micro y nanopartículas de PLGA encapsulando *quantum dots* y campotecina como modelos de agentes de imagen y anticancerígeno[114].

4.2. Administración y direccionamiento de fármacos peptídicos

Los productos farmacéuticos basados en proteínas y péptidos son una clase predominante en el campo de la aplicación terapéutica y clínica[115]. El desarrollo de sistemas de administración de péptidos puede cumplir dos objetivos: por una parte, proteger la cadena peptídica frente a la acción de proteasas y peptidasas, y, en segundo lugar, dirigirla selectivamente a las células o tejidos dianas.

Entre los sistemas portadores de péptidos y proteínas tenemos las micro y nanocápsulas, en estos sistemas particulados la vía parenteral ha sido la más estudiada y mejor establecida, aunque se han ensayado asimismo las vías oral, nasal y ocular.

El polímero más empleado en microencapsulación de péptidos ha sido el PLGA por su buena biocompatibilidad y porque las condiciones experimentales de preparación son compatibles con la estabilidad de la mayoría de los péptidos.

Por ejemplo, para la hormona de crecimiento humana recombinante encapsulada en microesferas de PLGA se obtienen niveles de actividad sostenidos durante un mes para varias especies de animales[116], igualmente este grupo de investigación ha realizado ensayos de fase clínica en humanos de tales formulaciones de microesferas para promover la angiogénesis local obteniendo como resultado que no se obtuvieron efectos secundarios sistémicos y pueden ser útiles en el desarrollo de modelos de enfermedades oculares[117].

También se ha estudiado la encapsulación en microesferas de la hormona liberadora de tirotropina (TRH), y se ha podido comprobar cómo esta preparación protege a la molécula de la degradación enzimática y permite su liberación en un largo periodo de tiempo (Heya et al., 1994). Más recientemente se han ensayado el uso de nanopartículas de PLGA con la TRH con fines de mejorar la penetración del fármaco en el sistema nervioso central y fueron recubiertas con quitosano con el fin de conseguir cargas superficiales positivas en la superficie y garantizar una mejor penetración en barrera hematoencefálica[118].

Otra posibilidad interesante es la unión del PEG a proteínas ya que aumenta su vida media en sangre debido a que reduce el aclaramiento renal, aumenta la resistencia a la proteólisis, reduce la antigenicidad e inmunogenicidad y mejora la solubilidad. Esta alternativa se ha aplicado al factor estimulante del crecimiento de colonias de granulocitos macrófagos (rhG-CSF)[119]. En estas preparaciones la biodisponibilidad aumenta tanto en la administración endovenosa como en la pulmonar en comparación con la proteína libre. Los estudios de este tipo de formulaciones hoy en día se encuentran incluso en ensayos de fase III, con el fin de investigar la seguridad y eficacia de PEG-rhG-CSF en pacientes con cáncer de mama y de pulmón y prevenir la neutropenia inducida por quimioterapia obteniéndose buenos resultados[120].

La administración pulmonar es una vía prometedora de proteínas y péptidos en comparación con otras vías alternativas de administración. Los pulmones ofrecen una gran superficie para la absorción de fármacos. Es de aproximadamente 80-140 m². El epitelio alveolar tiene un grosor aproximado de 0,1-0,5 mm, por lo que puede producirse

una rápida absorción del fármaco. Los alvéolos pueden ser un objetivo eficaz para la absorción de fármacos si se administran en forma de aerosol. Además, puede evitarse el metabolismo de primer paso del tracto gastrointestinal[115].

En la actualidad se están investigando muchos agentes nuevos para la administración pulmonar, tanto dirigida al pulmón como sistémica. Entre ellos se encuentran las hormonas del crecimiento (para las deficiencias de la hormona del crecimiento), la antitripsina-1 (para el enfisema y la fibrosis quística), los interferones (para la esclerosis múltiple y la hepatitis B y C) y la parahormona tiroidea (PTH) y otros péptidos (para la osteoporosis). Los métodos de administración por inhalación también pueden aplicarse a la terapia génica a través de la orientación a tejidos y órganos, así como a las vacunas. En colaboración con *Amylin Pharmaceuticals, Inc.*, Alkermes ha desarrollado una formulación Medisorb® de BYETTA® (exenatida) una vez a la semana para el tratamiento de la diabetes de tipo 2, conocida como exenatida LAR. En colaboración con Eli Lilly and Company, Alkermes utiliza la tecnología de administración pulmonar de fármacos AIR® (*Advanced Inhalation Research*) para desarrollar formulaciones inhaladas de insulina y hormona paratiroidea recombinante. Aradigm ha desarrollado la tecnología pulmonar AERx, que ayudaría a administrar morfina e insulina en los pulmones. *Nektar Therapeutic*, en colaboración con Pfizer, empezó a dosificar a los primeros pacientes diabéticos para el ensayo clínico de fase III de la insulina inhalable Exubera®. Actualmente se investigan varios fármacos para su posible absorción sistémica a través del sistema pulmonar: insulina, calcitonina, análogos de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH), factor estimulante de colonias de granulocitos (rhG-CSF) y hormona de crecimiento humano (hGH)[115].

4.3. Importancia del uso de sistemas micro-nanoparticulados poliméricos en la terapia anticoagulante

El tratamiento anticoagulante es una indicación frecuente en clínica, tanto en el área médica como en la quirúrgica.

Entre los fármacos empleados se encuentran las heparinas de bajo peso molecular, sin embargo, estas presentan ciertos efectos adversos a la terapia tales como: hemorragias y osteoporosis después de tratamientos prolongados y con dosis elevadas, complicaciones trombóticas, embolia pulmonar, infarto de miocardio, accidentes cerebrovasculares, oclusión arterial de extremidades y órganos, entre otros.

Recientemente, y como consecuencia de la constante búsqueda en la mejora de la relación beneficio/riesgo respecto a las heparinas, se han desarrollado nuevos antitrombóticos, entre los que se encuentran las hirudinas.

La hirudina natural se aisló por primera vez en 1950 a partir de las glándulas salivares de la sanguijuela europea medicinal (*Hirudo medicinalis*). Sin embargo, su limitada disponibilidad supuso un impedimento para su aplicación terapéutica, siendo en estos últimos años cuando la ingeniería genética ha permitido obtener formas recombinantes de la hirudina natural (r-hirudina) en cantidad suficiente para su uso clínico. Así, a lo largo de 1999 se han registrado nuevos fármacos de origen recombinante derivados de la hirudina natural, lepirudina y desirudina[121]–[123].

También se emplean anticoagulantes orales los cuales deben su denominación genérica a la excelente biodisponibilidad que tienen cuando se administran por vía oral. Los más utilizados son la warfarina y el acenocumarol (Neo-sintrom®), ambos derivados del dicumarol.

Además de la terapia convencional también se ha aplicado el uso de nanopartículas en la terapia anticoagulante, y a este respecto los esfuerzos recientes se centran en la prevención de la rápida degradación hemolítica mediante el revestimiento adecuado. La combinación de nanopartículas y moléculas biológicas es de gran interés debido a las propiedades sinérgicas ofrecidas por tales materiales compuestos recién sintetizados. La encapsulación de dichos fármacos, ofrece una mayor solubilización y protección frente a la degradación en los fluidos biológicos. El tamaño y las características de superficie del nanosistema puede facilitar su liberación mediante el efecto de incremento de la permeabilidad y retención; asimismo la cubierta polimérica confiere a los núcleos lipídicos la posibilidad de interaccionar con las superficies mucosas, así como epitelios y células específicas.

Las nanopartículas pueden ser diseñadas para transportar factores iniciadores de la coagulación. Asimismo, pueden ser diseñadas para administrar medicamentos anticoagulantes que intervienen en otras condiciones patológicas en las que se debe prevenir activación de la coagulación[124].

Ha sido investigado el uso de nanopartículas conjugadas con heparina (HP), y a este respecto fueron ensayadas nanopartículas poliméricas empleando PMMA y PLGA y fueron probadas *in vivo* para ensayar su biodisponibilidad en ratones. Los resultados demuestran una mejora en la actividad anticoagulante del fármaco[125].

De igual manera, se ha implementado el desarrollo de nanopartícula de PLGA, empleando Pluronic F-127 y funcionalizadas con heparina. Se aplicó un modelo de liberación *in vitro* y se obtuvo un perfil de liberación sostenida de más de 2 semanas con el mantenimiento de su bioactividad[126].

En cuanto al desarrollo de sistemas de liberación prolongada para hirudina, hasta ahora se no se han desarrollado sistemas basados en nanopartículas , sin embargo se han empleado microcápsulas a base de PLGA con recubrimiento de Pluronic F-127, lo cual conduce a una mejora en la actividad biológica[127], asimismo, se han empleado formulaciones de liberación prolongada empleando liposomas catiónicos por vía parenteral[128] e hidrogel por vía subcutánea basado en Pluronic F-127[129].

En nuestro grupo de investigación realizamos la preparación y caracterización de sistemas micro y nanoparticulados en base a poliésteres biodegradables usando el método de microemulsificación para estudiar el encapsulamiento y liberación del fármaco hirudina (inhibidor de trombina y con propiedades anticoagulantes). Fueron preparados tres tipos de micro y nanopartículas poliméricas: (1) PLLA poli(ácido L-láctico), (2) La polimezcla PLLA-PEG poli(ácido L-láctico): poli(etilenglicol) en proporción 50:50 y (3) el copolímero PLGA poli(ácido láctico: glicólico), con fines de obtener una matriz de soporte para la encapsulación por post-incubación del fármaco. Se evidenció que estos sistemas permiten una liberación controlada de la hirudina de hasta por 48 horas, bajo las condiciones experimentales del ensayo de coagulación[88].

4.4. Uso de sistemas micro-nanoparticulados poliméricas en el tratamiento de las enfermedades endémicas

Las enfermedades parasitarias como la malaria y la leishmaniasis representan una carga mundial significativa y suponen un gran desafío para los científicos en el descubrimiento y el suministro de los fármacos actuales debido a la naturaleza intracelular de los parásitos y a sus ubicaciones diseminadas. Por otra parte, la baja tasa de descubrimiento en el segmento antiparasitario visto en las últimas décadas requiere de una mayor eficacia de los medicamentos existentes mediante la modulación de su entrega.

La malaria es una enfermedad infecciosa que afecta principalmente a niños y mujeres embarazadas de países tropicales. La tasa de mortalidad de las personas infectadas con malaria por año es enorme y se convirtió en un problema de salud pública, ha sido una enfermedad infecciosa potencialmente mortal hasta ahora, a pesar de varios esfuerzos durante décadas para desarrollar medicamentos antipalúdicos seguros y efectivos. El principal factor que ha contribuido al éxito de la proliferación de la malaria es el aumento en el número de parásitos resistentes a los medicamentos[130].

La terapia convencional existente tiene varias limitaciones, tales como limitadas propiedades fisicoquímicas, escasa solubilidad en agua, inestabilidad química y baja biodisponibilidad. En consecuencia, se requiere una dosis alta para lograr concentraciones efectivas en la sangre, y esto puede causar toxicidad. Además, la aparición de parásitos resistentes se produce por mutación génica única o múltiple, por mecanismo de bombeo de expulsión y recrudecimiento debido a un tratamiento inadecuado o incompleto, o por infecciones múltiples de diferentes cepas, que requieren una terapia combinada de fármacos a largo plazo. Esto, a su vez, aumenta el riesgo de efectos adversos[131], [132].

Para contrarrestar esta tendencia, se han realizado investigaciones en nanotecnología y nanomedicina, para el desarrollo de nuevos sistemas biocompatibles capaces de incorporar fármacos, disminuir el progreso de la resistencia, contribuir al diagnóstico, control y tratamiento de la malaria mediante la entrega del objetivo[130]. Los sistemas de administración de fármacos basados en micro o nanosistemas pueden mejorar la eficacia terapéutica de los agentes antipalúdicos existentes mejorando la biodisponibilidad, reduciendo la resistencia a los fármacos debido a la bomba de eflujo, alterando los perfiles farmacocinéticos, controlando la tasa de liberación del fármaco y la biodistribución de los mismos[131].

Se ha empleado nanopartículas lipídicas biocompatibles cargadas con artemeter (NPL-ARM) demostrando eficacia terapéutica cuando fue comparada con la formulación comercial. De igual manera, fueron evaluadas *in vivo* nanopartículas lipídicas con artemeter en ratones infectados con *Plasmodium berghei*. Los resultados muestran que estos sistemas presentan menos actividad hemolítica y que son biocompatibles[130]. Por otra parte, se ha evaluado la liberación controlada de sistemas nanoestructurados cargados con dihidroartemisinina en sistema nervioso central, logrando buenos parámetros de liberación[133].

Para mejorar la eficacia terapéutica de otro fármaco antipalúdico dihidrocloruro de quinina en malaria cerebral, se encapsuló el fármaco bajo la forma de nanopartículas acopladas a transferrina, luego de ser ensayadas se observó una captación cerebral, farmacocinética y farmacodinámica mejoradas del fármaco encapsulado con respecto al fármaco en su forma libre[134].

Se han formulado nanopartículas de dextrano portadoras de difosfato de cloroquina (NPs-CHQ-DEX) para tratamiento de *Plasmodium falciparum* mediante el método de difusión del disolvente. El análisis de liberación de fármaco *in vitro* indicó el patrón de Higuchi con liberación de fármaco controlada por difusión. Los valores de IC₅₀ de NPs-CHQ-DEX en cepas sensibles (3D7) y resistentes (RKL9) de *Plasmodium falciparum* se estimaron en 0,031 µg/mL y 0,13 µg/mL, significativamente inferior a 0,059 µg/mL y 0,36 µg/mL del fármaco cloroquina (CHQ). La eficacia terapéutica aumentada de NPs-CHQ-DEX puede acreditarse a la deposición de nanopartículas en vacuolas alimentarias de parásitos de los parásitos de la malaria debido a la afinidad del parásito por DEX que, en consecuencia, disminuye la resistencia a los fármacos y mejora el índice terapéutico.

En el mismo orden de las enfermedades endémicas, otra enfermedad tropical desatendida y de importancia en la salud pública es la leishmaniasis, la cual es causada por una especie de protozoo del género *Leishmania*. La enfermedad tiene una tasa de mortalidad actual de 50.000 muertes por año, con riesgo para aproximadamente 350 millones de personas en más de 90 países en todo el mundo[135]. La leishmaniasis cutánea, mucocutánea y visceral son las formas más frecuentes de la enfermedad. La quimioterapia aún se basa en el uso de antimoniales pentavalentes, anfotericina B, anfotericina B liposomal y miltefosina.

El tratamiento de la leishmaniasis sigue siendo insuficiente, ya que los agentes antileishmania actuales tienen varias limitaciones que incluyen: baja eficacia, elevada toxicidad, generan efectos secundarios adversos, presentan resistencia a los medicamentos, tienen prolongada duración del tratamiento y altas líneas de costo. En consecuencia, existe un requerimiento inmediato para buscar nuevos compuestos antileishmania para lo cual se plantea el uso de nuevos sistemas de administración de fármacos que permitan el transporte del fármaco a la célula diana de forma específica con la minimización de los efectos tóxicos en las células normales mediante el uso de la nanotecnología[136].

En el caso de nanopartículas poliméricas, tanto las nanocápsulas como las nanoesferas han sido empleadas bajo la estrategia de direccionamiento pasivo, porque tienen un tiempo de circulación prolongado y un rápido periodo de aclaramiento por el sistema fagocitario y estos criterios mejoran su mecanismo de acción y la dosis requerida[136].

De Carvalho et al.[137] desarrollaron unas nanopartículas de PLGA y ácido dimercaptosuccínico (DMSA) encapsulando el fármaco desoxicolato de anfotericina B. Evaluaron la eficacia del nuevo sistema de administración en el tratamiento de la leishmaniasis cutánea y se evidenció una significativa reducción del número de parásitos y la viabilidad celular en comparación con la forma libre de la anfotericina B.

Van de Ven et al. [138] probaron la eficacia terapéutica *in vitro* de nanopartículas de PLGA cargadas con la saponina β-aescina en el tratamiento de la leishmaniasis y reportaron que las nanopartículas cargadas con la β-aescina fueron más efectivas que la β-aescina libre.

Han sido desarrolladas nanopartículas de quitosano funcionalizadas con manosa y cúrcuma (Cur-MCN) con fin de evaluarlas en el tratamiento de la leishmaniasis visceral.

Fue probada su eficacia y toxicidad en modelos *in vivo*, en hámster, y se demostró una supresión significativamente mayor en la replicación del parásito en el bazo, con Cur-MCN, con respecto a las nanopartículas de quitosano no conjugadas [65].

De igual manera, han sido probadas nanopartículas de PLGA y Vitamina E (TPGS) cargadas con ácido oleanólico (OA) para el tratamiento de leishmaniasis visceral mediada por *Leishmania donovani*. Las nanopartículas de PLGA-TPGS cargadas con OA se prepararon mediante la técnica de evaporación del disolvente. La formulación experimental de nanopartículas de OA demostró ser un portador atractivo siendo significativamente eficaz con respecto al OA sin encapsular en ensayos de amastigotes de *Leishmania donovani* tanto *in vitro* como *in vivo* [139].

Se prepararon nanopartículas de poli (*n*-butilcianoacrilato) recubiertas con dextrano (PBCA-NP) y se evaluaron en células fagocíticas para la administración mejorada de un candidato a fármaco antileishmania, llamado hidroximetilnitrofurazona (NFOH). Las PBCA-NP que contienen NFOH (PBCA-NFOH-NP) se prepararon mediante un método de polimerización en emulsión aniónica. La citotoxicidad se determinó usando macrófagos de ratones BALB / c. Se realizaron pruebas de eficacia utilizando promastigotes y amastigotes de *Leishmania amazonensis*. Los resultados reportados indicaron que la eficacia mejorada podría deberse a la internalización de las nanopartículas después de la administración específica del candidato a fármaco y la reactivación de las reacciones de protección inmune por parte de los componentes de la nanopartículas [140].

Las 3-(aril)-6-piperazin-1,2,4-triazolo[3,4-a]ftalazinas han mostrado un gran potencial como agente leishmanicida y antichagásica [141]. En nuestro grupo de investigación, preparamos una serie de micro-nanopartículas basadas en PLGA, PLA y PCL con diferentes tamaños de partículas y cargadas con 3-(aril)-6-piperazin-1,2,4-activo. Aquí mostramos dos variables que permitieron modular la actividad leishmanicida de las triazoloftalazinas encapsuladas: la naturaleza de la cadena del polímero y el tamaño de las nanopartículas; encontrando un aumento de la actividad para aquellas encapsuladas con el polímero PLGA sobre los polímeros PLA y PCL, así como un aumento para los nanoencapsulados que tienen menor tamaño. Los micro/nanoencapsulados mostraron una liberación aceptable del fármaco en condiciones fisiológicas, logrando una liberación continua de hasta 96 horas en la mayoría de los casos estudiados.

De igual manera, hemos desarrollado micro-nanopartículas poliméricas de PLGA de derivados 4-aminoquinolinas con actividad antiparasitaria en *Leishmania* y *Chagas*; se demostró que el encapsulamiento condujo a una reducción en la CI_{50} con respecto al compuesto libre y en concentraciones superiores a las encontradas para el fármaco de referencia. De igual manera, los derivados encapsulados mostraron acción variablemente selectiva sobre promastigote de *L. infantum* y sobre epimastigote de *T. cruzi*. La evaluación de la citotoxicidad de las micro-nanopartículas poliméricas encapsuladas con los derivados del tipo 4-aminoquinolinas y del tipo triazolo-ftalacina, mediante el ensayo de MTT, mostró una mayor citotoxicidad de los sistemas encapsulados y está asociado a una mayor concentración efectiva del derivado dentro de los macrófagos que a un efecto directo del polímero PLGA [85], [88].

4.5. Uso de sistemas micro-nanoparticulados poliméricas en el tratamiento de infecciones

Las enfermedades infecciosas figuran entre los principales problemas sanitarios del siglo XXI. A pesar del éxito obtenido con las terapias de antibióticos convencionales, se han identificado nuevos inconvenientes, a saber: las infecciones causadas por bacterias multirresistentes que han alcanzado niveles críticos, la falta de desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos, la escasa solubilidad y estabilidad de algunos fármacos existentes, la baja biodisponibilidad, la escasa penetración a los sitios de infección bacteriana y los efectos secundarios adversos que conducen a un bajo cumplimiento por parte del paciente lo cual contribuye a intensificar este problema[142], [143].

Los antibióticos son sustancias de bajo peso molecular producidas por procesos biosintéticos microbianos o por síntesis química, que pueden utilizarse en bajas concentraciones para inhibir específicamente la proliferación o matar microorganismos. Debido a su elevada especificidad los antibióticos presentan diferentes eficacias frente a diversas especies microbianas. Sin embargo, la resistencia a los antimicrobianos y la tolerancia a los mismos (AMR&T, por sus siglas en inglés) son preocupaciones sanitarias mundiales urgentes, con un número alarmantemente creciente de medicamentos antimicrobianos que fallan y el correspondiente aumento de muertes relacionadas[144].

Según un informe reciente de la Organización Mundial de la Salud, la resistencia a los fármacos antibacterianos (ATB) ha sido uno de los mayores retos, así como el desarrollo de ATB eficaces a largo plazo[80]. Se pueden citar varias razones para esta situación, como como el mal uso de los antibióticos tradicionales, el uso masivo de medidas sanitarias y el uso excesivo de antibióticos en la agricultura la pesca y la ganadería. La gestión de la AMR&T requiere un enfoque polifacético que implique varias estrategias a distintos niveles, como el aumento de la concienciación del paciente sobre la situación y las medidas para reducir las nuevas resistencias, la reducción del actual uso indebido o abuso, y la mejora de la selectividad de los tratamientos[145].

Teniendo en cuenta la enorme inversión financiera asociada a la introducción de un nuevo antibiótico y la limitada vida útil de los antibióticos, el diseño de sistemas de administración controlada de fármacos para antibióticos en el interior de las células permite emplear viejos antibióticos inutilizados por la resistencia o la toxicidad, aumentar el índice terapéutico, mejorar la biodisponibilidad y ampliar el espectro antimicrobiano de los mismos[144].

Por ello, la demanda de nuevos métodos terapéuticos ha despertado un gran interés mediante el uso de: liposomas, nanoemulsiones, nanopartículas de lípidos sólidos, micro y nanopartículas de polímeros, nanopartículas metálicas, entre otras[143].

En el caso del uso de micro y nanopartículas poliméricas para el tratamiento de infecciones se conoce que éstas son usualmente captadas por las células por endocitosis, lo cual podría beneficiar la liberación del fármaco en el caso de infecciones intracelulares. Las partículas poliméricas pueden superar barreras tisulares y celulares y administrar antibióticos en tejidos muy densos y en células diana inaccesibles y permiten la posibilidad de controlar y prolongar la liberación de las moléculas encapsuladas, mientras reducen la dosis y la frecuencia de dosificación[146], [147].

Han sido encapsulados numerosos antibióticos en nanopartículas poliméricas, por ejemplo, rifampicina y azitromicina, fueron encapsulados en nanopartículas de PLGA por Totti et al en el año 2011. Los estudios en modelos celulares demostraron que las

nanopartículas concentradas en células infectadas con *Chlamydia*, aumentaron la efectividad de los antibióticos al reducir la carga microbiana[148].

Se han empleado nanopartículas de almidón (SNP) para encapsular antibióticos. El grupo de Ismail et al. encapsularon en el año 2017 penicilina y estreptomicina, sintetizando nanopartículas del tipo SNP mediante microemulsión y a fin de evaluar el efecto inhibidor de las mismas fueron ensayadas en la bacteria *Streptococcus pyogenes*.

Se han empleado nanopartículas de almidón (SNP) para encapsular antibióticos. El grupo de Ismail et al. [149] encapsularon penicilina y estreptomicina, sintetizando nanopartículas del tipo SNP mediante microemulsión y a fin de evaluar el efecto inhibidor de las mismas fueron ensayadas en la bacteria *Streptococcus pyogenes*. Los resultados indicaron una efectividad en la inhibición de estos medicamentos encapsulados con respecto a los fármacos en su forma libre.

Ha sido estudiado que los compuestos precursores de moléculas pequeñas, que producen biocidas oxidantes con propiedades antimicrobianas, podrían proporcionar una gama de nuevos productos terapéuticos para combatir las infecciones resistentes. Basado en esta premisa, el grupo de Sofokleous P et al. [150] sintetizaron micropartículas de PLGA para liberación controlada de un donador de peroxígeno, percarbonato de sodio, combinado con un donante de acetilo, tetraacetiletildiamina, con el objetivo de proporcionar actividad antimicrobiana local. Las micropartículas ensayadas permitieron la liberación controlada del peróxido de hidrógeno y el ácido peracético que produjeron la destrucción rápida y sostenida de microorganismos resistentes a los medicamentos, tales como: *Staphylococcus aureus*, resistente a meticilina, y *Escherichia coli* resistente a carbapenem, y no presentaron citotoxicidad *in vitro* e *in vitro*, ni reactividad intracutánea *in vivo*.

La liberación de agentes antivirales también ha sido estudiada empleando nanopartículas poliméricas. Numerosas investigaciones se enfocan en el citomegalovirus[151], empleando nanopartículas cargadas con aciclovir o ganciclovir para el tratamiento de infecciones debido a que estos fármacos tienen baja biodisponibilidad, por ejemplo, el aciclovir tiene una absorción oral de solo 10-20%. El aciclovir se encapsuló en nanopartículas PLA-PEG funcionalizadas con valina, lo que resultó en un aumento de 2.7 veces en la permeabilidad en comparación con el fármaco libre. La encapsulación de aciclovir mejor algunos parámetros farmacocinéticos en comparación con la absorción oral.

Gandhi et al., investigaron la posibilidad de desarrollar nanopartículas de Eudragit RLPO® encapsulando aciclovir las cuales se prepararon mediante técnica de nanoprecipitación y empleando Pluronic F68 como estabilizador. Los resultados de DSC mostraron que, en las nanopartículas preparadas, el fármaco estaba presente en la fase amorfa y puede haberse dispersado homogéneamente en la matriz polimérica. Los resultados preliminares indican que las nanopartículas de Eudragit RLPO® cargadas con aciclovir podrían ser eficaces para mantener la liberación del fármaco durante un período prolongado de tiempo [152].

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] L. Sáez, Virginia; Hernández, Estíbaliz; López, “Liberación controlada de fármacos. aplicaciones biomédicas,” *Rev. Iberoam. Polímeros*, vol. 4, no. 2, pp. 111–122, 2003.
- [2] V. Sáez, E. Hernández, and L. S. Angulo, “Mecanismos de liberación de fármacos desde materiales poliméricos,” *Rev. Iberoam. Polímeros*, vol. 5, no. 1, pp. 55–70, 2004.
- [3] A. K. Nayak, S. A. Ahmad, S. Beg, T. J. Ara, and M. S. Hasnain, “Drug delivery: Present, past, and future of medicine,” in *Applications of Nanocomposite Materials in Drug Delivery*, Elsevier, 2018, pp. 255–282.
- [4] G. Chapters *et al.*, “Revisions to USP 30-NF 25 , First Supplement,” no. February 2007, 2011.
- [5] “USP XXXVIII NF XXXII,” 621.
- [6] N. Chandana, H. Gopinath, D. Bhowmik, I. Williamkeri, and R. Thirupathi, “Modified release dosage forms,” 2013.
- [7] Consejo general de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, “Especialidades Farmacéuticas Orales de Liberación Modificada.,” Madrid, 2002.
- [8] Grand View Research, “Mercado global de sistemas de liberación controlada de fármacos: análisis de la industria, tendencias, oportunidades y pronóstico, 2022-2029,” 2023.
- [9] P. Gálvez, A. Ruiz, and B. Clares, “The future of new therapies in clinical medicine,” *Med. Clin. (Barc.)*, vol. 137, no. 14, pp. 645–649, 2011.
- [10] E. Medicines Agency, “Guideline on the pharmacokinetic and clinical evaluation of modified release dosage forms,” 2014.
- [11] L. Villafuerte-Robles, “Nanotecnología Farmacéutica,” *Razón y Palabra*, vol. 68, no. 01, pp. 1–20, 2009.
- [12] I. Klojdová, T. Milota, J. Smetanová, and C. Stathopoulos, “Encapsulation: A Strategy to Deliver Therapeutics and Bioactive Compounds?,” *Pharmaceuticals*, vol. 16, no. 3. MDPI, 01-Mar-2023.
- [13] C. J. Martínez Rivas *et al.*, “Nanoprecipitation process: From encapsulation to drug delivery,” *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 532, no. 1. Elsevier B.V., pp. 66–81, 2017.
- [14] C. Gómez-gaete, “Nanopartículas Poliméricas: Tecnología y Aplicaciones Farmacéuticas (Polymeric nanoparticles : technologie and pharmaceutical applications),” *Rev. Farmacol. Chile*, vol. 7, no. 2, pp. 7–16, 2014.
- [15] M. A. Sabino, O. Sereno, and F. L. Dantas, “Morphology study of alginate micro/nano particles for the encapsulation of divalents Mg²⁺ and Zn²⁺ ions,” *Int. J. Adv. Med. Biotechnol. - IJAMB*, vol. 1, no. 1, p. 22, 2018.
- [16] G. Satchanska, S. Davidova, and P. D. Petrov, “Natural and Synthetic Polymers for Biomedical and Environmental Applications,” *Polymers (Basel.)*, vol. 16, no. 8, 2024.
- [17] M. F. Maitz, “Applications of synthetic polymers in clinical medicine,” *Biosurface and Biotribology*, vol. 1, no. 3, pp. 161–176, 2015.
- [18] V. Sáez, E. Hernández, L. Sanz Angulo, and I. Katime, “Liberación controlada de fármacos. micropartículas,” *Rev. Iberoam. Polímeros*, vol. 5, no. 2, pp. 87–101, 2004.
- [19] H. G. B. De Jong, “Die Koazervation und ihre Bedeutung für die Biologie,” *Protoplasma*, vol. 15, no. 1, pp. 110–173, 1932.
- [20] W. Holliday, M. Berdrick, S. Bell, and G. Kiritsis, “Sustained relief analgesic compositions,” 1970.
- [21] M. Madej, N. Kurowska, and B. Strzalka-Mrozik, “Polymeric Nanoparticles—Tools in a Drug Delivery System in Selected Cancer Therapies,” *Applied Sciences (Switzerland)*, vol. 12, no. 19. MDPI, 01-Oct-2022.
- [22] K. K. Jain, *The Handbook of Nanomedicine: Second Edition*. 2012.
- [23] Z. M. Mazayen, A. M. Ghoneim, R. S. Elbatanony, E. B. Basalious, and E. R. Bendas, “Pharmaceutical nanotechnology: from the bench to the market,” *Futur. J. Pharm. Sci.*, vol. 8, no. 1, Jan. 2022.

- [24] European Commission, “Definition of Nanomaterials,” 2011.
- [25] F. Babick, J. Mielke, W. Wohlleben, and S. Weigel, *How reliably can a material be classified as a nanomaterial? Available particle-sizing techniques at work*, vol. 18, no. 6. Springer Netherlands, 2016.
- [26] un acercamiento lo básico César Germán Lizarazo-Salcedo, E. Emir González-Jiménez, C. Yohana Arias-Portela, J. Guarduati-Ariza, and C. Germán Lizarazo-Salcedo, “Nanomateriales: un acercamiento a lo básico Nanomaterials: Being Closer to Basics,” 2018.
- [27] P. R. Lockman, R. J. Mumper, M. A. Khan, and D. D. Allen, “Nanoparticle technology for drug delivery across the blood-brain barrier,” *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 28, no. 1, pp. 1–13, 2002.
- [28] I. Brigger, C. Dubernet, and P. Couvreur, “Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis,” *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 54, pp. 631–651, 2002.
- [29] E. Palma, A. Pasqua, A. Gagliardi, D. Britti, M. Fresta, and D. Cosco, “Antileishmanial activity of amphotericin B-loaded-PLGA nanoparticles: An overview,” *Materials (Basel)*, vol. 11, no. 7, 2018.
- [30] S. Perumal, “Polymer Nanoparticles Synthesis and Applications,” *Polymers (Basel)*, vol. 14, no. 24, p. 5449, 2022.
- [31] A. Zielinska *et al.*, “Polymeric Nanoparticles: Production, Characterization, Toxicology and Ecotoxicology,” *Molecules*, vol. 25, no. 16. MDPI AG, 01-Aug-2020.
- [32] M. J. Ramalho and M. C. Pereira, “Preparation and Characterization of Polymeric Nanoparticles: An Interdisciplinary Experiment,” *J. Chem. Educ.*, vol. 93, no. 8, pp. 1446–1451, 2016.
- [33] I. I. Muhamad, S. Selvakumaran, N. Asmak, and M. Lazim, “Designing Polymeric Nanoparticles for Targeted Drug Delivery System.”
- [34] M. V. Lozano *et al.*, “Polyarginine nanocapsules: A new platform for intracellular drug delivery,” *J. Nanoparticle Res.*, vol. 15, no. 3, 2013.
- [35] K. Alhareth, C. Vauthier, C. Gueutin, G. Ponchel, and F. Moussa, “HPLC quantification of doxorubicin in plasma and tissues of rats treated with doxorubicin loaded poly(alkylcyanoacrylate) nanoparticles,” *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, vol. 887–888, pp. 128–132, 2012.
- [36] C. L. Oliveira *et al.*, “Characterization of polymeric nanoparticles for intravenous delivery: Focus on stability,” *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 150, pp. 326–333, 2017.
- [37] C. Thauvin, B. Schwarz, F. Delie, and E. Allémann, “Functionalized PLA polymers to control loading and/or release properties of drug-loaded nanoparticles,” *Int. J. Pharm.*, vol. 548, no. 2, pp. 771–777, 2018.
- [38] J. Y. Lee, K. H. Bae, J. S. Kim, Y. S. Nam, and T. G. Park, “Intracellular delivery of paclitaxel using oil-free, shell cross-linked HSA - Multi-armed PEG nanocapsules,” *Biomaterials*, vol. 32, no. 33, pp. 8635–8644, 2011.
- [39] N. Carlsson, H. Gustafsson, C. Thörn, L. Olsson, K. Holmberg, and B. Åkerman, “Enzymes immobilized in mesoporous silica: A physical-chemical perspective,” *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 205. 2014.
- [40] D. Puppi, S. Braccini, A. Ranaudo, and F. Chiellini, “Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyexanoate) scaffolds with tunable macro- and microstructural features by additive manufacturing,” *J. Biotechnol.*, vol. 308, pp. 96–107, 2020.
- [41] A. Bettencourt and A. J. Almeida, “Poly(methyl methacrylate) particulate carriers in drug delivery,” *J. Microencapsul.*, vol. 29, no. 4, pp. 353–367, 2012.
- [42] M. E. Favretto, A. Krieg, S. Schubert, U. S. Schubert, and R. Brock, “Multifunctional poly(methacrylate) polyplex libraries: A platform for gene delivery inspired by nature,” *J. Control. Release*, vol. 209, pp. 1–11, 2015.
- [43] R. Sanz, G. Calleja, A. Arencibia, and E. S. Sanz-Pérez, “CO₂ adsorption on branched polyethyleneimine-impregnated mesoporous silica SBA-15,” *Appl. Surf. Sci.*, vol. 256, no. 17, pp. 5323–5328, 2010.

- [44] S. Tian *et al.*, “Controlled drug delivery for glaucoma therapy using montmorillonite/Eudragit microspheres as an ion-exchange carrier,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 13, pp. 415–428, 2018.
- [45] H. Nosrati, R. Adinehvand, H. K. Manjili, K. Rostamizadeh, and H. Danafar, “Synthesis, characterization, and kinetic release study of methotrexate loaded mPEG–PCL polymersomes for inhibition of MCF-7 breast cancer cell line,” *Pharm. Dev. Technol.*, vol. 24, no. 1, pp. 89–98, 2019.
- [46] Y. Zhou *et al.*, “Mesoporous silica nanoparticles for drug and gene delivery,” *Acta Pharm. Sin. B*, vol. 8, no. 2, pp. 165–177, 2018.
- [47] S. Kecel-Gündüz *et al.*, “Computational design of Phe-Tyr dipeptide and preparation, characterization, cytotoxicity studies of Phe-Tyr dipeptide loaded PLGA nanoparticles for the treatment of hypertension,” *J. Biomol. Struct. Dyn.*, vol. 36, no. 11, 2018.
- [48] S. Rahimian, M. F. Fransen, J. W. Kleinovink, M. Amidi, F. Ossendorp, and W. E. Hennink, “Polymeric microparticles for sustained and local delivery of antiCD40 and antiCTLA-4 in immunotherapy of cancer,” *Biomaterials*, vol. 61, pp. 33–40, Aug. 2015.
- [49] S. Wang *et al.*, “Degradable hyaluronic acid/protamine sulfate interpolyelectrolyte complexes as miRNA-delivery nanocapsules for triple-negative breast cancer therapy,” *Adv. Healthc. Mater.*, vol. 4, no. 2, pp. 281–290, 2015.
- [50] H. Shen, S. Shi, Z. Zhang, T. Gong, and X. Sun, “Coating solid lipid nanoparticles with hyaluronic acid enhances antitumor activity against melanoma stem-like cells,” *Theranostics*, vol. 5, no. 7, pp. 755–771, 2015.
- [51] K.-N. Yang, C.-Q. Zhang, W. Wang, P. C. Wang, J.-P. Zhou, and X.-J. Liang, “pH-responsive mesoporous silica nanoparticles employed in controlled drug delivery systems for cancer treatment,” *Cancer Biol. Med.*, vol. 11, no. 1, 2014.
- [52] F. Chiellini, A. M. Piras, and C. Errico, “Micro / nanostructured polymeric systems for biomedical and pharmaceutical applications,” vol. 3, pp. 367–393, 2008.
- [53] C. E. Mora-Huertas, H. Fessi, and A. Elaissari, “Polymer-based nanocapsules for drug delivery,” *Int. J. Pharm.*, vol. 385, no. 1–2, pp. 113–142, 2010.
- [54] D. A. Martínez, M. B. Buglione, M. V. Filippi, L. del C. Reynoso, G. E. Rodríguez, and M. S. Agüero, “Mycelial growth evaluation of Pleurotus ostreatus and Agrocybe aegerita on pear pomaces,” *An. Biol.*, no. 37, pp. 1–10, 2015.
- [55] C. Vauthier and K. Bouchemal, “Methods for the Preparation and Manufacture of Polymeric Nanoparticles,” *Pharm. Res.*, vol. 26, no. 5, pp. 1025–1058, 2009.
- [56] C. I. C. Crucho and M. T. Barros, “Polymeric nanoparticles: A study on the preparation variables and characterization methods,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 80, pp. 771–784, 2017.
- [57] Y. Farrag *et al.*, “Preparation of starch nanoparticles loaded with quercetin using nanoprecipitation technique,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 114, no. 2017, pp. 426–433, 2018.
- [58] A. Dalpiaz *et al.*, “Application of the ‘in-oil nanoprecipitation’ method in the encapsulation of hydrophilic drugs in PLGA nanoparticles,” *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 32, pp. 283–290, 2016.
- [59] J. Feng, G. Yang, S. Zhang, Q. Liu, S. M. Jafari, and D. J. McClements, “Fabrication and characterization of β -cypermethrin-loaded PLA microcapsules prepared by emulsion-solvent evaporation: loading and release properties,” *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 25, no. 14, pp. 13525–13535, 2018.
- [60] J. Vanderhoff, S. Mohamed, and J. Ugelstad, “Polymer Emulsification Process,” 4,177,177.
- [61] M. Matos, G. Gutiérrez, L. Martínez-Rey, O. Iglesias, and C. Pazos, “Encapsulation of resveratrol using food-grade concentrated double emulsions: Emulsion characterization and rheological behaviour,” *J. Food Eng.*, vol. 226, pp. 73–81, 2018.
- [62] L. Battaglia *et al.*, “Solid lipid nanoparticles by coacervation loaded with a methotrexate prodrug: Preliminary study for glioma treatment,” *Nanomedicine*, vol. 12, no. 6, pp. 639–656, 2017.
- [63] K. Divya, V. Smitha, and M. S. Jisha, “Antifungal, antioxidant and cytotoxic activities of chitosan nanoparticles and its use as an edible coating on vegetables,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 114, no. 2017, pp. 572–577, 2018.

- [64] S. R. Lee and Y. J. Kim, "Hydrophilic chlorin e6-poly(Amidoamine) dendrimer nanoconjugates for enhanced photodynamic therapy," *Nanomaterials*, vol. 8, no. 6, 2018.
- [65] P. Chaubey *et al.*, "Mannose-conjugated curcumin-chitosan nanoparticles: Efficacy and toxicity assessments against *Leishmania donovani*," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 111, pp. 109–120, 2018.
- [66] V. Aparna, A. Melge, V. Rajan, R. Biswas, R. Jayakumar, and M. C. Gopi, "Carboxymethylated 1-carrageenan conjugated amphotericin B loaded gelatin nanoparticles for treating intracellular *Candida glabrata* infections.," *Int J Biol Macromol.*, vol. 110, pp. 140-149., 2018.
- [67] H. Li, H. Zheng, W. Tong, and C. Gao, "Non-covalent assembly of poly(allylamine hydrochloride)/triethylamine microcapsules with ionic strength-responsiveness and auto-fluorescence.," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 496, pp. 228-234., 2017.
- [68] A. Priyam, P. Nagar, A. Kumar, and P. Kumar, "Mussel-inspired polydopamine-polyethylenimine conjugated nanoparticles as efficient gene delivery vectors for mammalian cells," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 161, pp. 403–412, 2018.
- [69] J. González *et al.*, "Rational design of protamine nanocapsules as antigen delivery carriers," *J Control Release.*, vol. 245, pp. 62-69., 2017.
- [70] N. Isahak, J. Sanchez, S. Perrier, M. Stone, and R. Payne, "Synthesis of polymers and nanoparticles bearing polystyrene sulfonate brushes for chemokine binding," *Org Biomol Chem.*, vol. 14, no. 24, pp. 5652-5658., 2016.
- [71] S. Kumar, G. Bhanjana, R. Verma, D. Dhingra, N. Dilbaghi, and K. Kim, "Metformin-loaded alginate nanoparticles as an effective antidiabetic agent for controlled drug release.," *J Pharm Pharmacol.*, vol. 69, no. 2, pp. 143-150., 2017.
- [72] L. Sánchez, D. Martin, V. Alvarez, and J. González, "Polyacrylic acid-coated iron oxide magnetic nanoparticles: The polymer molecular weight influence," *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 543, pp. 28–37, 2018.
- [73] R. Heo *et al.*, "Dextran sulfate nanoparticles as a theranostic nanomedicine for rheumatoid arthritis," *Biomaterials*, vol. 131, pp. 15–26, 2017.
- [74] S. Shahin *et al.*, "Hyaluronic acid conjugated nanoparticle delivery of siRNA against TWIST reduces tumor burden and enhances sensitivity to cisplatin in ovarian cancer," *Nanomedicine*, vol. pii: S1549, no. 18, pp. 30080–7, 2018.
- [75] J. Carvalho *et al.*, "Preparation of gelatin nanoparticles by two step desolvation method for application in photodynamic therapy," *J Biomater Sci Polym Ed*, vol. 27, pp. 1–15, 2018.
- [76] J. Young *et al.*, "Chondroitin sulfate-stabilized silver nanoparticles: Improved synthesis and their catalytic, antimicrobial, and biocompatible activities," *Carbohydr Res*, vol. 457, pp. 14–24, 2018.
- [77] H. Sun, D. Cao, H. Wu, H. Liu, X. Ke, and T. Ci, "Development of low molecular weight heparin based nanoparticles for metastatic breast cancer therapy," *Int J Biol Macromol*, vol. 112, pp. 343–355, 2018.
- [78] G. Lollo, "Nanocápsulas de poliaminoácidos para la liberación selectiva de fármacos antitumorales," p. 346, 2012.
- [79] V. Levdansky, O. Solcová, and P. Izak, "Size effects in physicochemical processes in nanoparticles and nanopores," 2018, vol. 211, pp. 117–122.
- [80] O. Sereno, S. Ortiz, F. Dantas, J. López, and M. . Sabino, "Alginic Acid Nanoparticles obtained using Zinc Chloride," *Acta Microsc.*, vol. 220, no. 4, pp. 311–318, 2013.
- [81] R. Retamal, M. Babick, and L. Hillemann, "Zeta potential measurements for non-spherical colloidal particles – Practical issues of characterisation of interfacial properties of nanoparticles," *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 532, pp. 516–521, 2017.
- [82] D. Peng *et al.*, "Foaming and surface properties of gliadin nanoparticles: Influence of pH and heating temperature," *Food Hydrocoll.*, vol. 77, pp. 107–116, 2018.
- [83] C. Tiemeyer, A. Lange, and J. Plank, "Determination of the adsorbed layer thickness of functional anionic polymers utilizing chemically modified polystyrene nanoparticles," *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 456, pp. 139–145, 2014.

- [84] E. Yamamoto, S. Miyazaki, C. Aoyama, and M. Kato, “A simple and rapid measurement method of encapsulation efficiency of doxorubicin loaded liposomes by direct injection of the liposomal suspension to liquid chromatography,” *Int. J. Pharm.*, vol. 53, pp. 21–28, 2018.
- [85] K. González, E. Medina, E. Aguilera, G. González, M. A. Sabino, and A. H. Romero, “In vitro anti-trypanosomal activity of 3-(aryl)-6-piperazin1,2,4-triazolo[3,4-*a*]phthalazines-loaded ultrathin polymeric particles: effect of polymer type and particle size,” *RSC Pharm.*, 2024.
- [86] G. R. Karina Noreica, “Síntesis y desarrollo de sistemas micro y nanoestructurados para la liberación controlada de fármacos,” Universidad Central de Venezuela, 2022.
- [87] K. N. González R, G. González, J. Rodrígues, A. S. Marques, Kruzkaya Vázquez, and M. A. Sabino, “Encapsulación de derivados de sulfanil – sulfonil chalconas en sistemas micro/nanoparticulados poliméricos de PDLA con aplicación de liberación controlada.,” *Mater. Simulación Procesos Ind. y Nanotecnología*, vol. JIFI-EAI, no. MSN-013, 2018.
- [88] K. N. González, G. González, and M. A. Sabino, “Preparation of micro and nanoparticulated systems based in degradable polyesters for encapsulation of hirudin and delivery,” *Acta Microsc.*, vol. 32, no. 2, pp. 29–38, 2023.
- [89] Y. C. Marcano and M. A. G. Sabino, “Chemical modification of alginate with L-cysteine to extend its use in drug delivery systems,” *Cellul. Chem. Technol.*, vol. 52, no. 7–8, pp. 559–567, 2018.
- [90] C. Oliveira *et al.*, “Characterization of polymeric nanoparticles for intravenous delivery: Focus on stability,” *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 150, pp. 326–333, 2016.
- [91] L. Guomin, S. Miao, W. Yongfu, and X. Mengxuan, “Research on Surface Modification Methods of Nanoparticles,” 2015.
- [92] D. Shi and P. He, “Surface modifications of nanoparticles and nanotubes by plasma polymerization,” *Rev. Adv. Mater. Sci.*, vol. 7, pp. 97–107, 2004.
- [93] M. Sabino, “Modificación de superficies de biomateriales poliméricos y estudios de biocompatibilidad,” *Rev. Iberoam. Polímeros*, vol. 9, pp. 206–210, 2008.
- [94] M. A. Sabino G., “Modificación De Superficies De Biomateriales Poliméricos Y Estudios De Biocompatibilidad,” *Rev. Iberoam. Polímeros Vol. Rev. Iberoam. Polim.*, vol. 9, no. 93, pp. 206–210, 2008.
- [95] K. Duan, R. Wang, and R. Wang, “Surface modifications of bone implants through wet chemistry,” no. December 2005, pp. 2309–2321, 2006.
- [96] P. Chua, W. Chena, and N. Huang, “Plasma-surface modification of biomaterials,” *Mater. Sci. Eng. R*, vol. 36, pp. 143–206, 2002.
- [97] E. Herrán *et al.*, “In vivo administration of VEGF- and GDNF-releasing biodegradable polymeric microspheres in a severe lesion model of Parkinson’s disease,” *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 85, no. 3 PART B, pp. 1183–1190, 2013.
- [98] M. Sadowska, Z. Adamczyk, and M. Nattich-Rak, “Formation of hematite nanoparticle monolayers of controlled coverage and structure at polymeric microparticles,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 505, pp. 509–518, 2017.
- [99] A. M. Nasef, A. R. Gardouh, and M. M. Ghorab, “Formulation and in-vitro evaluation of pantoprazole loaded pH-sensitive polymeric nanoparticles,” *Futur. J. Pharm. Sci.*, vol. 3, no. 2, pp. 103–117, 2017.
- [100] M. Hedayati and M. Kipper, “Atomic force microscopy of adsorbed proteoglycan mimetic nanoparticles: Toward new glycocalyx-mimetic model surfaces,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 190, pp. 346–355, 2018.
- [101] S. Abdel-Hafez, R. Hathout, and O. Sammour, “Tracking the transdermal penetration pathways of optimized curcumin-loaded chitosan nanoparticles via confocal laser scanning microscopy,” *Int J Biol Macromol.*, vol. 108, pp. 753–764., 2018.
- [102] T. Mosmann, “Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays,” *J. Immunol. Methods*, vol. 65, no. 1–2, pp. 55–63, 1983.
- [103] H. Ali, Y. Rizi, D. H. Shin, and S. Y. Rizi, “Polymeric Nanoparticles in Cancer Chemotherapy: A

- Narrative Review," 2022.
- [104] I. Ali *et al.*, "Progress in polymeric nano-medicines for theranostic cancer treatment," *Polymers*, vol. 12, no. 3. MDPI AG, 01-Mar-2020.
- [105] E. Miele, G. P. Spinelli, E. Miele, F. Tomao, and S. Tomao, "Albumin-bound formulation of paclitaxel (Abraxane ® ABI-007) in the treatment of breast cancer," 2009.
- [106] D. D. Von Hoff *et al.*, "Increased Survival in Pancreatic Cancer with nab-Paclitaxel plus Gemcitabine," pp. 1691–1703, 2013.
- [107] G. Lambert, E. Fattal, H. Pinto-alphandary, A. Gulik, and P. Couvreur, "Pharmaceutical Research, Vol. 17, No. 6, 2000 Research Paper," vol. 17, no. 6, pp. 707–714, 2000.
- [108] M. Shoshy *et al.*, "Hyaluronan-coated nanoparticles: The influence of the molecular weight on CD44-hyaluronan interactions and on the immune response," *J Control Release*, vol. 156, no. 2, pp. 231–8, 2011.
- [109] T. Nassar, A. Rom, A. Nyska, and S. Benita, "A novel nanocapsule delivery system to overcome intestinal degradation and drug transport limited absorption of P-glycoprotein substrate drugs," *Pharm. Res.*, vol. 25, no. 9, pp. 2019–2029, 2008.
- [110] V. C. F. Mosqueira *et al.*, "Relationship between complement activation, cellular uptake and surface physicochemical aspects of novel PEG-modified nanocapsules," *Biomaterials*, vol. 22, no. 22, pp. 2967–2979, 2001.
- [111] M. L. Graham, "Pegaspargase: A review of clinical studies," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 55, no. 10, pp. 1293–1302, 2003.
- [112] R. C. Mundargi, V. R. Babu, V. Rangaswamy, P. Patel, and T. M. Aminabhavi, "Nano/micro technologies for delivering macromolecular therapeutics using poly(d,l-lactide-co-glycolide) and its derivatives," *J. Control. Release*, vol. 125, no. 3, pp. 193–209, 2008.
- [113] L. Rui *et al.*, "Functional organic nanoparticles for photodynamic therapy," *Chinese Chem. Lett.*, vol. 27, no. 8, pp. 1412–1420, 2016.
- [114] K. Y. Win, E. Ye, C. P. Teng, S. Jiang, and M. Y. Han, "Engineering Polymeric Microparticles as Theranostic Carriers for Selective Delivery and Cancer Therapy," *Adv. Healthc. Mater.*, vol. 2, no. 12, pp. 1571–1575, 2013.
- [115] A. Biswas, Y. Liu, T. Liu, G. Fan, and Y. Tang, "Polyethylene glycol-based protein nanocapsules for functional delivery of a differentiation transcription factor," *Biomaterials*, vol. 33, no. 21, pp. 5459–5467, 2012.
- [116] C. Jeffrey *et al.*, "The stability of recombinant human growth hormone in poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) microspheres," *Pharm Res.*, vol. 14, no. 4, pp. 420–5, 1997.
- [117] J. Cleland *et al.*, "Development of poly-(D,L-lactide-coglycolide) microsphere formulations containing recombinant human vascular endothelial growth factor to promote local angiogenesis," *J Control Release*, vol. 72, no. 1–4, pp. 13–24, 2001.
- [118] S. Kaur *et al.*, "Thyrotropin-Releasing Hormone Loaded and Chitosan Engineered Polymeric Nanoparticles : Towards Effective Delivery of Neuropeptides," vol. 2, pp. 5324–5332, 2016.
- [119] R. W. Niven, K. L. Whitcomb, L. Shaner, L. D. Ralph, A. D. Habberfield, and J. V. Wilson, "Pulmonary absorption of polyethylene glycolated recombinant human granulocyte-colony stimulating factor (PEG rhG-CSF)," *J. Control. Release*, vol. 32, no. 2, pp. 177–189, 1994.
- [120] B. Xu *et al.*, "A multicenter, randomized, controlled, phase III clinical study of PEG-rhG-CSF for preventing chemotherapy-induced neutropenia in patients with breast cancer and non-small cell lung cancer," *Chinese*, vol. 38, no. 1, pp. 23–7, 2016.
- [121] R. C. Esper, C. R. A. Delgadillo, and D. S. Rios, "Inhibidores directos de trombina," *Med. Interna Mex.*, vol. 27, no. 1, pp. 38–51, 2011.
- [122] A. V Domarus, "Medicina Interna," vol. t.1, p. 990, 1979.
- [123] M. Cuellar, E. Romá, C. Planells, and P. Carmona, "Hirudinas: nuevas perspectivas en terapia antitrombótica," *Farm. Hosp.*, vol. 24, no. 4, pp. 179–186, 2000.

- [124] A. Llinskaya and M. Dobrovolskaia, “Nanoparticles and the blood coagulation system. Part II: safety concerns,” *Nanomedicine*, vol. 8, no. 6, pp. 969–981, 2013.
- [125] M. M. Kemp and R. J. Linhardt, “Heparin-based nanoparticles,” vol. 2, pp. 77–87, 2010.
- [126] Y.-I. Chung, G. Tae, and S. Hong Yuk, “A facile method to prepare heparin-functionalized nanoparticles for controlled release of growth factors.,” *Biomaterials*, vol. 27, no. 12, pp. 2621–2626, 2006.
- [127] D. L. Sellers, T. H. Kim, C. W. Mount, S. H. Pun, and P. J. Horner, “Poly(lactic-co-glycolic) acid microspheres encapsulated in Pluronic F-127 prolong hirudin delivery and improve functional recovery from a demyelination lesion,” *Biomaterials*, vol. 35, no. 31, pp. 8895–8902, 2014.
- [128] M. Meng *et al.*, “Increase of the pharmacological and pharmacokinetic efficacy of negatively charged polypeptide recombinant hirudin in rats via parenteral route by association with cationic liposomes,” *J. Control. Release*, vol. 128, no. 2, pp. 113–119, 2008.
- [129] Y. Liu *et al.*, “Controlled delivery of recombinant hirudin based on thermo-sensitive Pluronic(R) F127 hydrogel for subcutaneous administration: In vitro and in vivo characterization,” *J. Control. Release*, vol. 117, no. 3, pp. 387–395, 2007.
- [130] N. P. Aditya, P. G. Vathsala, V. Vieira, R. S. R. Murthy, and E. B. Souto, “Advances in nanomedicines for malaria treatment,” *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 201–202, pp. 1–17, 2013.
- [131] A. Garg, K. Bhalala, D. S. Tomar, and M. Wahajuddin, *Nanomedicine: Emerging Trends in Treatment of Malaria*. Elsevier Inc., 2017.
- [132] N. Magalhães and V. Mosqueira, “Nanotechnology applied to the treatment of malaria,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 62, pp. 560–575, 2010.
- [133] X. Zhang *et al.*, “Formulation optimization of dihydroartemisinin nanostructured lipid carrier using response surface methodology,” *Powder Technol.*, vol. 197, pp. 120–8, 2010.
- [134] S. Gupta and M. K. Gupta, “Possible role of nanocarriers in drug delivery against cervical cancer,” *Nano Rev. Exp.*, vol. 8, no. 1, p. 1335567, 2017.
- [135] WHO, “Estadística de la Leishmaniasis,” 2023. [Online]. Available: https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1.
- [136] M. Akbari and A. Oryan, “Acta Tropica Application of nanotechnology in treatment of leishmaniasis : A Review,” vol. 172, no. April, pp. 86–90, 2017.
- [137] R. Fontoura *et al.*, “Experimental Parasitology Leishmanicidal activity of amphotericin B encapsulated in PLGA – DMSA nanoparticles to treat cutaneous leishmaniasis in C57BL / 6 mice,” *Exp. Parasitol.*, vol. 135, no. 2, pp. 217–222, 2013.
- [138] H. Van De Ven *et al.*, “PLGA nanoparticles loaded with the antileishmanial saponin β -aescin: Factor influence study and in vitro efficacy evaluation,” *Int. J. Pharm.*, vol. 420, no. 1, pp. 122–132, 2011.
- [139] S. Ghosh, N. Kar, and T. Bera, “Oleanolic acid loaded poly lactic co- glycolic acid- vitamin E TPGS nanoparticles for the treatment of Leishmania donovani infected visceral leishmaniasis,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 93, pp. 961–970, 2016.
- [140] L. M. Monteiro *et al.*, “Targeting Leishmania amazonensis amastigotes through macrophage internalisation of a hydroxymethylnitrofuranzone nanostructured polymeric system,” *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 50, no. 1, pp. 88–92, 2017.
- [141] A. H. Romero, M. E. Acosta, N. Gamboa, J. E. Charris, J. Salazar, and S. E. López, “Bioorganic & Medicinal Chemistry Synthesis , β -hematin inhibition studies and antimarial evaluation of dehydroxy isotebuquine derivatives against Plasmodium berghei,” vol. 23, pp. 4755–4762, 2015.
- [142] O. Parisi, L. Scrivano, M. Sinicropi, and P. F, “Polymeric nanoparticle constructs as devices for antibacterial therapy,” *Curr Opin Pharmacol.*, vol. 36, pp. 72–77, 2017.
- [143] T. X. Zong *et al.*, “Recent Advances in Antimicrobial Nano-Drug Delivery Systems,” *Nanomaterials*, vol. 12, no. 11, 2022.
- [144] M. C. Chifiriuc *et al.*, “Antibiotic Drug Delivery Systems for the Intracellular Targeting of Bacterial Pathogens,” in *Smart Drug Delivery System*, InTech, 2016.

- [145] J. Aparicio-Blanco *et al.*, “Antibiotic resistance and tolerance: What can drug delivery do against this global threat?,” *Drug Deliv. Transl. Res.*, 2024.
- [146] F. Danhier, E. Ansorena, J. M. Silva, R. Coco, A. Le Breton, and V. Préat, “PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications,” *J. Control. Release*, vol. 161, no. 2, pp. 505–522, 2012.
- [147] M. Xiong, Y. Bao, X. Yang, and W. J. Zhu Y, “Delivery of antibiotics with polymeric particles.,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 78, pp. 63–76, 2014.
- [148] U. Toti *et al.*, “Targeted delivery of antibiotics to intracellular chlamydial infections using PLGA nanoparticles,” *Biomaterials*, vol. 32, pp. 6606–6613, 2011.
- [149] M. Ismail, R. Prasad, A. I. M. Ibrahim, and A. I. S. Ahmed, *Modern prospects of nanotechnology in plant pathology*. 2017.
- [150] P. Sofokleous *et al.*, “Sustained antimicrobial activity and reduced toxicity of oxidative biocides through biodegradable microparticles,” *Acta Biomater.*, vol. 64, pp. 301–312, 2017.
- [151] B. Gourdon *et al.*, “Functionalized PLA-PEG nanoparticles targeting intestinal transporter PepT1 for oral delivery of acyclovir,” *Int J Pharm*, vol. 529, no. 1–2, pp. 357–370, 2017.
- [152] A. Gandhi, S. Jana, and K. Sen, “In-vitro release of acyclovir loaded Eudragit RLPO(®) nanoparticles for sustained drug delivery,” *Int J Biol Macromol*, vol. 67, pp. 478–82, 2014.