

# **ESTUDIOS DE ESTABILIDAD EN NANOSISTEMAS POLIMÉRICOS DE VEHICULIZACIÓN DE FÁRMACOS.**

TRABAJO FIN DE GRADO

GRADO EN FARMACIA

Universidad de La Laguna



AUTORA: SARA INÉS PÉREZ EXPÓSITO

TUTOR: DR. EDGAR PÉREZ HERRERO

DEPARTAMENTO: INGENIERÍA QUÍMICA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

## 1. RESUMEN

Los nanosistemas como vehículos de fármacos son una apuesta de futuro a la hora de administrar principios activos de forma controlada y dirigida. Sin embargo, la estabilidad de éstos es uno de los principales desafíos con los que nos encontramos a la hora de llevar a cabo este tipo de terapias.

En este trabajo se abordan los aspectos fundamentales de la evaluación de la estabilidad química y coloidal de los nanosistemas de administración de fármacos, con el foco puesto en los poliméricos. Además, se repasan las principales técnicas para mejorar su estabilidad.

**Palabras clave:** nanotecnología, sistemas de liberación de fármacos, nanosistemas poliméricos, estabilidad.

## 2. ABSTRACT

Nanosystems as drug vehicles are a bet for the future when they are used for the administration of active ingredients in a controlled and directed way. However, their stability is one of the main challenges we encounter in these therapies.

In this review, the fundamental aspects of the evaluation of the chemical and colloidal stability of drug delivery nanosystems are studied, with a focus on polymeric nanosystems. In addition, the main techniques to improve stability are reviewed.

**Keywords:** nanotechnology, drug delivery systems, polymeric nanosystems, stability.

### 3. INTRODUCCIÓN

#### 3.1. NANOSISTEMAS POLIMÉRICOS PARA LA VEHICULIZACIÓN Y ESTABILIZACIÓN DE FÁRMACOS.

La nanotecnología se encarga del diseño, síntesis y aplicación de materiales y sistemas a través del control de la materia a nivel de nanoescala. Según la Iniciativa Nacional de Nanotecnología (NNI), el tamaño de las estructuras nanométricas debe estar en el rango de 1 a 100 nm, aunque comúnmente se incluyen todas aquellas de cientos de nanómetros que son fabricadas mediante este tipo de tecnología (Bayda et al., 2019).

Tabla 1. Principales ámbitos de aplicación de la nanotecnología.

ÁMBITO	USOS	VENTAJAS	EJEMPLOS
<b>INDUSTRIA ALIMENTARIA</b>	Envases y alimentos innovadores.	Mejora la conservación, permite la preparación de alimentos especializados.	<ul style="list-style-type: none"><li>• Envases inteligentes con propiedades antimicrobianas, antioxidantes...</li><li>• Aditivos que mejoran los caracteres organolépticos</li><li>• Alimentos con características específicas: intolerancias o alergias.</li></ul>
<b>AGRICULTURA</b>	Nanofertilizantes, nanopesticidas, nanoherbicidas y nanosensores.	Incrementa el rendimiento y reduce el impacto ambiental.	<ul style="list-style-type: none"><li>• Nanopartículas de óxido de hierro: mejoran la absorción</li><li>• Nanopartículas de silicio: mejoran la resistencia.</li><li>• Nanopartículas de fósforo: enriquecen el suelo.</li></ul>
<b>COSMÉTICA</b>	Formulaciones con una penetración cutánea mejorada.	Penetran en las capas más profundas de la piel potenciando los efectos.	<ul style="list-style-type: none"><li>• Protección solar</li><li>• Despigmentantes</li><li>• Antiarrugas</li><li>• Limpiadores</li><li>• Hidratantes</li></ul>
<b>NANO-ELECTRÓNICA</b>	Componentes electrónicos extremadamente pequeños y eficientes.	Ligereza, menor tamaño y consumo energético.	<ul style="list-style-type: none"><li>• Televisores LED</li><li>• Chips de computadores</li><li>• Radios</li><li>• Nanosensores</li></ul>

Aunque los nanosistemas tienen aplicación en multitud de áreas (ver Tabla 1), éstos están teniendo actualmente una gran importancia en el ámbito farmacéutico, sobre todo en lo que se refiere a su uso como vectores de liberación de fármacos, los denominados nanotransportadores, los cuales son sistemas coloidales capaces de transportar agentes bioactivos, como fármacos de bajo peso molecular, macromoléculas, material genético o proteínas (Pérez-Herrero & Fernández-Medarde, 2015). Estos sistemas permiten controlar la farmacocinética de los fármacos (distribución tisular y absorción) a través de la modificación de sus propiedades físico-químicas, mejorar la administración de fármacos de baja solubilidad, controlar los perfiles de liberación, dirigir una sustancia a un tejido o célula específico, evitando su degradación prematura, transportar fármacos a través de barreras biológicas, llevar a cabo terapias combinadas, visualizar la biodistribución de fármacos y leer en tiempo real la eficacia *in vivo* de un agente terapéutico (Farokhzad & Langer, 2009; Chacko et al., 2011).

Hasta la fecha, se han descrito nanotransportadores con diversas estructuras y materiales (Figura 1). Cada uno de estos sistemas presenta sus propios beneficios, pero este TFG se centra únicamente en los nanosistemas poliméricos. Estos transportadores son muy estables *in vivo*, tienen una capacidad de carga de fármacos muy alta (incluyendo fármacos hidrofóbicos) y permiten una fácil modificación de sus características fisicoquímicas y de sus perfiles de liberación (Kamaly N et al., 2012; Fernando C et al, 2013). Además, las propiedades antimicrobianas, antitumorales o inmunoestimulantes innatas de ciertos polímeros pueden amplificar los resultados terapéuticos (Niculescu A-G, Grumezescu AM, 2021)

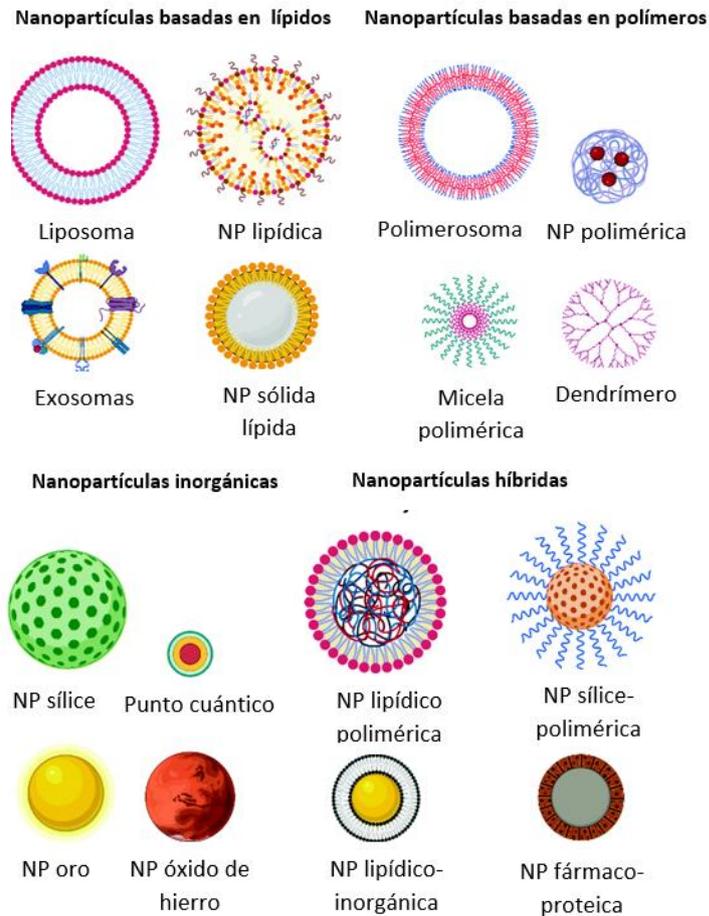


Figura 1. Nanotransportadores más utilizados entre los que destacan liposomas, partículas poliméricas y nanosistemas de nanomateriales inorgánicos. Reproducida con modificaciones con permiso de (Bariwal J et al, 2022).

Para la preparación de este tipo de transportadores se pueden utilizar polímeros naturales, sintéticos, semisintéticos o mezclas. Los naturales tienen como inconvenientes su pureza variable y una estabilidad física en ocasiones deficiente. Entre los más usados encontramos el quitosano que presenta actividad antimicrobiana, es mucoadhesivo, biocompatible y biodegradable, y puede unirse a moléculas cargadas negativamente por interacciones electroestáticas o puentes de hidrógeno. Otros polímeros naturales frecuentemente utilizados son el almidón y el alginato que, además, forman geles con cationes polivalentes. (Mercadante V et al., 2021).

En cuanto a los polímeros sintéticos, los más utilizados son el ácido poliláctico (PLA), ácido poliglicólico (PGA), y el ácido poli-láctico-co-glicólico (PLGA). Estos biopolímeros están disponibles comercialmente para uso médico y han sido aprobados por la FDA (Food and Drug Administration), siendo utilizados

ampliamente por sus propiedades favorables de biocompatibilidad y biodegradabilidad (Kamaly N et al., 2012).

La estabilidad de estos vectores de liberación es uno de los aspectos críticos para garantizar su seguridad y eficacia, por lo que su conocimiento y las técnicas de mejora de ésta es uno de los principales objetivos de estudio para su aplicación clínica.

### **3.2. ESTABILIDAD FARMACÉUTICA.**

La estabilidad se define como la medida en que un medicamento mantiene, dentro de unos límites especificados, y durante su periodo de almacenamiento y uso, las mismas propiedades y características que poseía en el momento de su fabricación (Merino, 2022). La estabilidad de los productos farmacéuticos, en su envase primario final, debe ser demostrada mediante el empleo de métodos apropiados, denominados ensayos de estabilidad. Dichos ensayos están recogidos y unificados en las guías ICH (International Conference on Harmonization).

Los nanomedicamentos pertenecen a una clase definida por la FDA como productos farmacéuticos complejos y están clasificados dentro de la guía ICH como “new drugs products”, lo que justifica que la evaluación de la estabilidad de éstos presente desafíos únicos en comparación con la de los medicamentos convencionales (Weissig et al., 2021). Los ensayos de estabilidad de aplicación para los nanosistemas de vehiculización de fármacos están recogidos en las guías Q1A (R2), que incluye datos y recomendaciones de estabilidad necesarios para el registro de nuevos fármacos o medicamentos, Q1C, que contiene los datos que deben ser presentados cuando se pretende registrar una nueva forma de dosificación, es decir, una misma sustancia activa pero que va a ser administrada de una forma diferente, y Q5C que recoge las pruebas de estabilidad que se deben hacer a los productos biológicos o biotecnológicos, de gran importancia en el caso de nanotransportadores dirigidos hacia dianas terapéuticas (Muthu and Feng, 2009).

La falta de un marco regulatorio específico para las nanoformulaciones ha provocado importantes vacíos en los requisitos necesarios para tener éxito durante su aprobación, especialmente con pruebas que demuestren su seguridad y eficacia. El problema radica en que las ventajas que presentan los nanosistemas son a su vez los principales desafíos a la hora de realizar una evaluación de éstos. No obstante, hasta el año 2022 se han aprobado por parte de las principales agencias reguladoras (FDA Y EMA) 58 terapias que incluyen nanopartículas, siendo las más exitosas las compuestas por lípidos y polímeros (Ramos et al., 2022).

En la guía de la FDA sobre productos farmacéuticos basados en nanotecnología, la cual también incluye los productos biológicos (Drug products, including biological products, that contain nanomaterials. Guidance for industry. FDA. April 2022), se indica que dentro de los criterios a evaluar se deben incluir datos de estabilidad química y física para obtener las condiciones de almacenamiento, la vida media, los sistemas de envasado apropiados, y las condiciones de uso. Por ello, en los siguientes apartados se describen los aspectos fundamentales de dichas estabilidades.

### **3.3. ESTABILIDAD QUÍMICA DE LOS NANOSISTEMAS POLIMÉRICOS.**

El proceso de degradación de los polímeros se basa en la escisión de la cadena hidrolítica, durante la cual las cadenas de polímeros se rompen en oligómeros y, finalmente, en monómeros. Según el tipo de polímero se puede diferenciar entre materiales erosionables heterogéneos y homogéneos; la diferencia entre éstos es que en los primeros la hidrólisis del polímero se limita a la superficie exterior, y en los homogéneos la degradación se produce a un ritmo uniforme en toda la matriz polimérica (Alexis, 2005).

La degradación del polímero está estrechamente relacionada con la liberación del fármaco, ya que esta última se puede producir, en el caso de polímeros biodegradables, por difusión a través de los poros de la matriz, por degradación o erosión del polímero, o por una combinación de ambos (Miranda, 2020).

Aunque el factor más influyente en la degradación del polímero es su composición, que determina la hidrofilia de la matriz, hay otros factores que van a intervenir, como el propio tamaño y forma de la matriz. Los sistemas poliméricos más pequeños tienen una mayor área superficial en relación a su volumen, lo que permite una mayor exposición de los grupos de terminación y bordes de la cadena polimérica a los agentes de degradación y por tanto se producirá una mayor degradación. Por el contrario, los de mayor tamaño tienen una mayor cantidad de enlaces químicos a lo largo de la cadena polimérica para romper, por lo que la degradación será más costosa (Hickey et al., 2015). Algo similar pasa con la porosidad, ya que a mayor porosidad mayor área superficial donde podrá interaccionar el sistema con los agentes externos (Klose D et al, 2006).

Como norma general, los polímeros altamente cristalinos son menos propensos a degradarse que los amorfos porque presentan una estructura más ordenada y menos porosa, lo que hace que sean menos permeables a moléculas que puedan promover la degradación, aunque hay ciertos desacuerdos entre diferentes autores (Alexis, 2005). Además, varios artículos llegan a la conclusión que un aumento en el peso molecular reduce la tasa de degradación (Jenkins & Harrinson, 2008) (Dimassi et al., 2022).

Otros factores a considerar son el pH y la temperatura del medio de liberación. Tanto los medios alcalinos como los fuertemente ácidos aceleran la degradación del polímero, sin embargo, hay controversia con los débilmente ácidos y los neutros debido al proceso de autocatálisis por los grupos finales carboxílicos (Xu et al., 2017). En cuanto a la temperatura, cuando ésta es superior a la temperatura de transición vítrea del polímero, la tasa de pérdida de peso es drástica debido a la elevada degradación (Alexis, 2005).

### **3.4. ESTABILIDAD FÍSICA O COLOIDAL DE LOS NANOSISTEMAS POLIMÉRICOS.**

La estabilidad física o coloidal se refiere a la capacidad de los sistemas para mantener sus propiedades físicas y estructurales durante su almacenamiento y

posterior uso. Para establecer dicha estabilidad se deben realizar una serie de ensayos que van a mostrar cómo es el cambio de determinadas características, como su tamaño, poli dispersión y agregación, morfología y carga superficial, a lo largo del tiempo y cuando se les somete a diferentes condiciones.

El tamaño y forma de partícula, y la distribución de tamaño y la agregación se pueden determinar a través de dispersión dinámica de luz láser (DLS, Dynamic Light Scattering), difracción láser, y/o microscopía electrónica de barrido y transmisión (SEM y TEM). Cambios en el tamaño de partícula o en la distribución de ésta son considerados problemas de estabilidad que pueden afectar a la seguridad del sistema. Un incremento en el tamaño o en la distribución suele indicar agregación, mientras que un descenso de éstos se relaciona con un proceso de degradación del polímero (Çapan et al., 2021).

La carga superficial o potencial Z, que mide la magnitud de atracción o repulsión de carga entre partículas, se suele obtener utilizando la técnica de dispersión de luz electroforética. Va a proporcionar información sobre la agregación y aglomeración, así como su interacción con barreras biológicas. Un valor relativamente alto, tanto positivo como negativo ( $\pm 30$  mV), es importante para una buena estabilidad fisicoquímica de la suspensión coloidal ya que las grandes fuerzas de repulsión tienden a evitar la agregación (Zielińska et al, 2020).

#### **4. OBJETIVOS**

- Realizar una revisión bibliográfica acerca de la evaluación de la estabilidad, tanto física como química, de los nanosistemas poliméricos usados como vehículos de fármacos.
- Analizar los principales retos que supone llegar a dicha estabilidad y las posibles técnicas para mejorar ésta.

Con todo ello se pretenden unificar los criterios de diversos investigadores que han analizado el tema para dar luz a uno de los principales retos que supone el uso de estos sistemas “innovadores” ya que la bibliografía al respecto no es tan extensa como para los sistemas de administración convencionales.

## **5. METODOLOGÍA**

Se realizó una revisión de la literatura sobre el tema, usando principalmente las bases de datos PubMed y Google Académico, el idioma inglés, y las palabras clave “polymeric nanoparticles”, “polymeric nanosystems”, “chemical stability”, “colloidal stability”, “degradation”, “surface charge”, “z-potential”, “crystallinity”, “molecular weight”. Fueron consultadas 53 publicaciones para la redacción del trabajo que están incluidas en la bibliografía.

Además, se consultaron las páginas web de instituciones de referencia, tales como las páginas oficiales de la FDA, la EMA e ICH.

## **6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **6.1. EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD QUÍMICA Y FÍSICA DE NANOSISTEMAS POLIMÉRICOS**

La estabilidad de los nanosistemas en relación con su degradación y/o la concentración del fármaco incluido se ha convertido en un estándar para evaluar la funcionalidad, calidad y eficacia de los mismos. Peltonen señala la técnica analítica de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) como la más empleada para estos fines. Los resultados emitidos permiten visualizar picos de los componentes de degradación o impurezas y las pérdidas del fármaco. La identificación de dichos compuestos deberá confirmarse con la ayuda de otras técnicas analíticas como la cromatografía líquida, la espectrometría de masas, la resonancia magnética nuclear (RMN) o la espectrofotometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) (Peltonen, 2018). Los estudios de estabilidad química no solo se centran en evaluar la funcionalidad del sistema final como medicamento; sino que se valida también la estabilidad de los componentes durante la elaboración del sistema.

Así, en un estudio reciente se evaluó la estabilidad de los péptidos antibacterianos Ib-M encapsulados en nanopartículas poliméricas a base de alginato y quitosano bajo diferentes valores de pH (2 y 11), temperaturas (4 y 100 °C) y proteasas (pepsina y tripsina). Bajo esta dinámica de trabajo, se

empleó la espectrofotometría para determinar su estabilidad en correspondencia con la actividad antimicrobiana del fármaco frente a *E. coli*. Los resultados de los péptidos libres mostraron estabilidad frente a la temperatura y el pH, pero no frente a las proteasas. Sin embargo, su inclusión en el sistema basado en quitosano y alginato generó estabilidad frente a los 3 parámetros (Osorio, 2022).

En cuanto a la evaluación de la estabilidad física, como se ha comentado anteriormente, las principales técnicas utilizadas para medir el tamaño de partícula, la distribución y la morfología son el DLS, la difracción laser, y las microscopías electrónicas, siendo la dispersión de luz electroforética la técnica preferida para determinar la carga superficial (Capan, 2021).

En este sentido, en un estudio realizado por la Universidad de Sevilla se evaluó la estabilidad *in vitro* e *in vivo* de diferentes formulaciones a base de nanopartículas poliméricas de ácido poli-(D,L-láctico-co-glicólico) (PLGA) como nanotransportadores de venlafaxina en el sistema nervioso central. La superficie de las nanopartículas fue modificada con transferrina y un péptido específico del receptor de la transferrina para su direccionamiento. Como fluido biológico de prueba se utilizó líquido cefalorraquídeo sintético y se mantuvieron los nanosistemas a una temperatura de 37 °C durante 24 horas. Se emplearon el análisis de tamaño de partícula e índice de polidispersión (IPd) como indicadores de la estabilidad física de los nanosistemas. Todas las formulaciones presentaron alta estabilidad en relación al tamaño de partícula e IPd durante el tiempo de exposición a las condiciones predefinidas. Estos resultados fueron considerados como precursores o como medio de apertura para efectuar las pruebas *in vivo* (Cayero, 2018).

No obstante, muchos autores consideran ambos tipos de estabilidad para validar sus formulaciones. En este sentido, Ribeiro y colaboradores evaluaron la estabilidad de nanocápsulas de poli( $\epsilon$ -caprolactona) (PCL) cargadas con hidroxitirosol durante 120 días. Los autores evaluaron el diámetro medio, el IPd y el potencial Z utilizando DLS y dispersión de luz electroforética, siendo la estructura superficial evaluada por medio de microscopia electrónica de barrido de emisión de campo. El ensayo de estabilidad indicó cambios significativos en los valores de pH debido probablemente a la liberación de grupos carboxílicos que aumentaron la degradación del polímero y condujeron a la acidificación del

medio. También se produjeron cambios en el tamaño medio con el tiempo lo que se asoció con una aglomeración de las nanopartículas, aunque el potencial zeta se mantuvo sin cambios, lo que indicó una estabilidad coloidal a lo largo del tiempo. Además, a pesar del cambio en el IPd, los valores se mantuvieron aceptables por debajo de 0,3, lo cual indicó su idoneidad para su uso farmacéutico (Ribeiro et al., 2023)

De forma similar, Lazzari y colaboradores evaluaron la estabilidad de nanopartículas poliméricas basadas en ácido poliláctico (PLA) y polimetilmetacrilato (PMML). Para ello, éstas fueron sometidas a diferentes condiciones que simulaban la ruta real al que un fármaco sería sometido dentro del organismo. En este sentido, la estabilidad coloidal fue evaluada a 37 °C durante 200 h en diferentes medios de almacenamiento, 60 horas en fluidos biológicos y 48 horas en plasma y tejidos homogeneizados. En las soluciones de almacenamiento, la distribución de tamaños no varió para los dos tipos de formulaciones, lo que demostró su estabilidad en estos medios. En cuanto a los fluidos simulados (saliva, jugo gástrico y fluido intestinal), el único cambio en cuanto a aglomeración se dio por parte de la formulación de PLA en saliva. Con respecto a los estudios en sueros y tejidos homogeneizados todos los sistemas presentaron estabilidad en todos ellos a excepción del PLA en el homogeneizado de bazo, que presentó una aglomeración significativa. Según los autores, la mayor estabilidad mostrada por la formulación basada en PMMA es debida a su mayor potencial Z. En este mismo estudio también se llevó a cabo un análisis de la estabilidad química, estudiando la degradación de las nanopartículas de PLA, al no ser degradable el PMMA. Para ello, se analizó la cantidad liberada de ácido láctico mediante HPLC. Solamente se observó una ligera degradación del 2 y 4 % después de 14 días en las soluciones de almacenamiento, no detectándose trazas de ácido láctico en fluidos gastrointestinales, suero u homogeneizados después de 48-60 h (Lazari S, 2012).

## 6.2. TÉCNICAS DE ESTABILIZACIÓN DE NANOSISTEMAS POLIMÉRICOS

Las nanopartículas en solución en ciertas ocasiones representan sistemas coloidales relativamente poco estables ya que éstas tienden a reducir su alta energía superficial a través de la agregación o aglomeración. Por ello, la forma más eficaz de mejorar la estabilidad de las nanopartículas es la incorporación de agentes estabilizadores sobre su superficie, que distinga las nanopartículas entre sí y, por lo tanto, aumente su estabilidad (Madkour et al.,2019). El PEG y la albúmina se han utilizado comúnmente para este fin (Aji Alex et al., 2017), además de la polivinilpirrolidona (PVP), el alcohol polivinílico (PVA) o el quitosano, entre otros (Javed et al., 2020).

De forma general, los dos mecanismos que se suelen utilizar para mejorar la estabilidad coloidal son la estabilización electrostática y la estabilización estérica. La estabilización electrostática es el mecanismo en el que las fuerzas atractivas de van der Waals son contrarrestadas por las fuerzas repulsivas de Coulomb que actúan entre las partículas coloidales cargadas. La estabilización estérica de los coloides involucra aditivos que se agregan al medio fluido para inhibir la coagulación de la suspensión de partículas (Mo, 2016). La estabilización estérica tiene numerosas ventajas sobre la electrostática. En la estabilización estérica, la repulsión entre partículas puede ser independiente de la concentración de electrolitos, además, dependiendo del polímero utilizado, la estabilización estérica puede ser efectiva tanto en medios no acuosos como acuosos, cosa que no ocurre con la estabilización electrostática que es típicamente aplicable solo en soluciones acuosas. Además, la estabilización estérica funciona en un amplio rango de concentraciones coloidales a diferencia de la estabilización electrostática, que es más efectiva solo a concentraciones más bajas (Madkour et al.,2019).

Otros enfoques que podrían usarse potencialmente para producir nanosuspensiones autoestabilizadas incluyen el aumento del pZ, mediante la adición de tensioactivos, electrolitos o por cambios en el pH, y el control de la morfología o las propiedades de superficie de las nanopartículas para minimizar las fuerzas entre partículas (Wu L et al., 2011). Para el control de la morfología

varios autores hablan sobre la eficacia de la síntesis de nanopartículas con plantillas de polímeros, pues logran altos niveles de control sintético durante la fabricación (Madkour et al.,2019).

## **7. CONCLUSIÓN**

En general, los nanosistemas poliméricos favorecen la administración de fármacos de baja solubilidad, optimizan su liberación y mejoran su distribución por el organismo. En muchos casos, la efectividad de los tratamientos aumenta debido a sus propiedades antibacterianas, inmunoestimuladoras y antitumorales.

Como en todos los tipos de formulaciones, la evaluación de la estabilidad es un punto clave en su éxito y seguridad. En los nanosistemas poliméricos ésta puede estar condicionada por el efecto de varios factores fisicoquímicos como el tamaño de partícula, su composición, el tiempo y las condiciones de procesamiento (pH, temperatura, enzimas, etc.), entre otros. Por ello, para evaluar dicha estabilidad es común medir diferentes parámetros, como el pH, pZ, IPd, o cambios de la estructura superficial, a lo largo del tiempo y en diferentes condiciones.

Los principales métodos de estabilización se basan en la adición de un estabilizante, aunque la elección de éste también presenta cierta dificultad. En general, las estrategias que se suelen utilizar para mejorar la estabilidad coloidal de estos sistemas se basan en su estabilización estérica o electroestática. Otros enfoques incluyen la modificación del potencial Z y el control de la morfología de las nanopartículas.

## **8. BIBLIOGRAFÍA**

Aji Alex MR, Nehate C, Veerananarayanan S, Kumar DS, Kulshreshtha R, Koul V. Self assembled dual responsive micelles stabilized with protein for co-delivery of drug and siRNA in cancer therapy. *Biomaterials*; 2017; 133:94–106. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.04.022>

Alexis F. Factors affecting the degradation and drug-release mechanism of poly(lactic acid) and poly[(lactic acid)-co-(glycolic acid)]. *Polym Int*; 2005;54(1):36–46. <https://doi.org/10.1002/pi.1697>

Amidi M, Romeijn SG, Borchard G, Junginger HE, Hennink WE, Jiskoot W. Preparation and characterization of protein-loaded N-trimethyl chitosan nanoparticles as nasal delivery system. *J Control Release*; 2006;111(1–2):107–16. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.11.014>

Anton N, Benoit J-P, Saulnier P. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates-a review. *J Control Release*; 2008;128(3):185–99. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.02.007>

Badawi AA, El-Nabarawi MA, El-Setouhy DA, Alsammit SA. Formulation and stability testing of itraconazole crystalline nanoparticles. *AAPS PharmSciTech*; 2011;12(3):811–20. <https://doi.org/10.1208/s12249-011-9651-9>

Bariwal J, Ma H, Altenberg GA, Liang H. Nanodiscs: a versatile nanocarrier platform for cancer diagnosis and treatment. *Chem Soc Rev*; 2022;51(5):1702–28. <https://doi.org/10.1039/D1CS01074C>

Bayda S, Adeel M, Tuccinardi T, Cordani M, Rizzolio F. The history of nanoscience and nanotechnology: From chemical-physical applications to nanomedicine. *Molecules*; 2019;25(1):112; <https://doi.org/10.3390/molecules25010112>

Çapan Y, Sahin A, Tonbul H. Drug delivery with targeted nanoparticles: In vitro and in vivo evaluation methods; Jenny Stanford Publishing; 2021; <https://books.google.at/books?id=YihHEAAQBAJ>

Cayero MD, Nanopartículas poliméricas para vehiculizar activos farmacéuticos al sistema nervioso central [Tesis doctoral] Sevilla: Universidad de Sevilla; 2018. <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/85305/1/TESIS%20DOCTORAL%20M%C2%AA%20DOLORES%20CAYERO%20OTERO.pdf?sequence=1>

Chacko A-M, Hood ED, Zern BJ, Muzykantov VR. Targeted nanocarriers for imaging and therapy of vascular inflammation. *Curr Opin Colloid Interface Sci*; 2011;16(3):215–27. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2011.01.008>

Chang D, Ma Y, Xu X, Xie J, Ju S. Stimuli-responsive polymeric nanoplatfoms for cancer therapy. *Front Bioeng Biotechnol*; 2021; 9:707319. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.707319>

Dimassi SN, Hahladakis JN, Yahia MND, Ahmad MI, Sayadi S, Al-Ghouti MA. Degradation-fragmentation of marine plastic waste and their environmental implications: A critical review. *Arab J Chem*; 2022;15(11):104262. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104262>

Elsabahy M, Wooley KL. Design of polymeric nanoparticles for biomedical delivery applications. *Chem Soc Rev*; 2012;41(7):2545–61. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104262>

Farokhzad OC, Langer R. Impact of nanotechnology on drug delivery. *ACS Nano*; 2009;3(1):16–20. <https://doi.org/10.1021/nn900002m>

Fathi M, Barar J. Perspective highlights on biodegradable polymeric nanosystems for targeted therapy of solid tumors. *BiolImpacts*; 2017;7(1):49–57. [10.15171/bi.2017.07](https://doi.org/10.15171/bi.2017.07)

Ferraris C, Rimicci C, Garelli S, Ugazio E, Battaglia L. Nanosystems in cosmetic products: A brief overview of functional, market, regulatory and safety concerns. *Pharmaceutics*;2021; 13(9):1408. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutica13091408>

Gao Y, Zu H, Zhang J. Enhanced dissolution and stability of adefovir dipivoxil by cocrystal formation: Adefovir dipivoxil cocrystal. *J Pharm Pharmacol*; 2011;63(4):483–90. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2010.01246.x>

He X, Deng H, Hwang H-M. The current application of nanotechnology in food and agriculture. *J Food Drug Anal*; 2019;27(1):1–21. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.12.002>

Hickey JW, Santos JL, Williford J-M, Mao H-Q. Control of polymeric nanoparticle size to improve therapeutic delivery. *J Control Release*; 2015;219:536–47. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.10.006>

Javed R, Zia M, Naz S, Aisida SO, Ain NU, Ao Q. Role of capping agents in the application of nanoparticles in biomedicine and environmental remediation:

recent trends and future prospects. *J Nanobiotechnology*; 2020;18(1):172.  
<https://doi.org/10.1186/s12951-020-00704-4>

Jenkins MJ, Harrison KL. The effect of crystalline morphology on the degradation of polycaprolactone in a solution of phosphate buffer and lipase. *Polym Adv Technol*; 2008;19(12):1901–6. <http://dx.doi.org/10.1002/pat.1227>

Kamaly N, Xiao Z, Valencia PM, Radovic-Moreno AF, Farokhzad OC. Targeted polymeric therapeutic nanoparticles: design, development and clinical translation. *Chem Soc Rev*;2012; 1(7):2971–3010. 10. <https://doi.org/10.1039/C2CS15344K>

Klose D, Siepmann F, Elkharraz K, Krenzlin S, Siepmann J. How porosity and size affect the drug release mechanisms from PLGA-based microparticles. *Int J Pharm*; 2006;314(2):198–206. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.07.031>

Kumar S, Burgess DJ. Wet milling induced physical and chemical instabilities of naproxen nano-crystalline suspensions. *Int J Pharm*; 2014;466(1–2):223–32. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.03.021>

Lazzari S, Moscatelli D, Codari F, Salmona M, Morbidelli M, Diomedede L. Colloidal stability of polymeric nanoparticles in biological fluids. *J Nanopart Res*; 2012;14(6):920. <https://doi.org/10.1007/s11051-012-0920-7>

Lemoine D, Francois C, Kedzierewicz F, Preat V, Hoffman M, Maincent P. Stability study of nanoparticles of poly( $\epsilon$ -caprolactone), poly(D,L-lactide) and poly(D,L-lactide-co-glycolide). *Biomaterials*;1996;17(22):2191–7.  
[https://doi.org/10.1016/0142-9612\(96\)00049-X](https://doi.org/10.1016/0142-9612(96)00049-X)

Madkour M, Bumajdad A, Al-Sagheer F. To what extent do polymeric stabilizers affect nanoparticles characteristics? *Adv Colloid Interface Sci*; 2019; 270:38–53.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2019.05.004>

Marker G. La nanotecnología a fondo. *Tecnología + Informática*. 2021.  
<https://www.tecnologia-informatica.com/nanotecnologia/>

Martinez AM, *Nanosistemas basados en polímeros naturales para la vehiculización de tamoxifeno [Tesis doctoral ]*; Madrid: Universidad complutense; 2014; <https://eprints.ucm.es/id/eprint/24856/>

Merino V, Aspectos básicos en el desarrollo de estudios de estabilidad de medicamentos y su aplicación en los servicios de farmacia; Construyendo La FH; 2022;<https://www.construyendolafh.es/aspectos-basicos-en-el-desarrollo-de-estudios-de-estabilidad-de-medicamentos-y-su-aplicacion-en-los>

Miranda S.V.C. Desarrollo de un nanosistema polimérico biodegradable de una nueva molécula con actividad antidiabética. El autor; 2020; <http://riaa.uaem.mx/handle/20.500.12055/1196>

Mo S, Shao X, Chen Y, Cheng Z. Increasing entropy for colloidal stabilization. Sci Rep; 2016;6:36836. <http://dx.doi.org/10.1038/srep36836>

Mukherjee A, Waters AK, Kalyan P, Achrol AS, Kesari S, Yenugonda VM. Lipid-polymer hybrid nanoparticles as a next-generation drug delivery platform: state of the art, emerging technologies, and perspectives. Int J Nanomedicine; 2019;14:1937–52. <https://doi.org/10.2147/IJN.S198353>

Muthu MS, Feng S-S. Pharmaceutical stability aspects of nanomedicines. Nanomedicine (Lond); 2009;4(8):857–60. <http://dx.doi.org/10.2217/nnm.09.75>

Niculescu A-G, Grumezescu AM. Polymer-based nanosystems-A versatile delivery approach. Materials (Basel); 2021; 14(22):6812. <https://doi.org/10.3390/ma14226812>

Ojeda GA, Arias Gorman AM, Sgroppo SC. La nanotecnología y su aplicación en alimentos. Revista Interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología; 2019.12(23):1. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2019.23.67747>

Osorio CE. Estabilidad Bioquímica y Actividad Biológica de Péptidos Antibacterianos Ib-M Inmovilizados en Nanopartículas Poliméricas Basadas en Alginato y Quitosano [Maestría], Santander: Universidad de Santander; 2022. <https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/ae6790a4-d743-4d87-b484-1e373db255b8/content>

Peltonen L. Practical guidelines for the characterization and quality control of pure drug nanoparticles and nano-cocrystals in the pharmaceutical industry. Adv Drug Deliv Rev; 2018;131:101–15. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.06.009>

Pérez-Herrero E, Fernández-Medarde A. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. *Eur J Pharm Biopharm*; 2015; 93:52–79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.03.018>

Ramos TI, Villacis-Aguirre CA, López-Aguilar KV, Santiago Padilla L, Altamirano C, Toledo JR, et al. The hitchhiker's guide to human therapeutic nanoparticle development. *Pharmaceutics*; 2022; 14(2):247. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020247>

Ribeiro JPM, Schebelski DJ, Lyra AM, Camargo G dos A, Nadal JM, Novatski A, et al. Physicochemical characterization, quantitative drug analysis, and stability testing of hydroxytyrosol-loaded poly( $\epsilon$ -caprolactone) nanocapsules. *Braz Arch Biol Technol*; 2023; 66:e23230081; <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2023230081>

Rosas JE, Pedraz JL. Microesferas de PLGA: un sistema para la liberación controlada de moléculas con actividad inmunogénica. *Rev Colomb Cienc Quím Farm*; 2007; 36(2):134–53. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-74182007000200003](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74182007000200003)

Santa CF, López Osorio BL. Materiales poliméricos en nanomedicina: transporte y liberación controlada de fármacos. *Rev Acad Colomb Cienc Exactas Fis Nat*; 2013; 37(142):115–24. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0370-39082013000100008](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-39082013000100008)

Schubert S, Delaney JT Jr, Schubert US. Nanoprecipitation and nanoformulation of polymers: from history to powerful possibilities beyond poly(lactic acid). *Soft Matter*; 2011; 7(5):1581–8. <https://doi.org/10.1039/C0SM00862A>

Shao X-R, Wei X-Q, Song X, Hao L-Y, Cai X-X, Zhang Z-R, et al. Independent effect of polymeric nanoparticle zeta potential/surface charge, on their cytotoxicity and affinity to cells. *Cell Prolif*; 2015; 48(4):465–74. <https://doi.org/10.1111/cpr.12192>

Silva HD, Cerqueira MA, Donsì F, Pinheiro AC, Ferrari G, Vicente AA. Development and characterization of lipid-based nanosystems: Effect of

interfacial composition on nanoemulsion behavior. *Food Bioproc Tech*; 2020;13(1):67–87. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02372-1>

Su Y, Zhang B, Sun R, Liu W, Zhu Q, Zhang X, et al. PLGA-based biodegradable microspheres in drug delivery: recent advances in research and application. *Drug Deliv*; 2021 28(1):1397–418. <https://doi.org/10.1080/10717544.2021.1938756>

Urrejola MC, Soto LV, Zumarán CC, Peñaloza JP, Álvarez B, Fuentesvilla I, et al. Sistemas de nanopartículas poliméricas II: Estructura, métodos de elaboración, características, propiedades, biofuncionalización y tecnologías de auto-ensamblaje Capa por Capa (layer-by-layer self-assembly). *Int J Morphol*; 2018; 36(4):1463–71. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022018000401463>

Valueva SV, Vylegzhanina ME, Plyushchenko AV. Atomic force microscopy and the optical characteristics of hybrid polymeric nanosystems based on silver and selenium nanoparticles. *J Surf Investig X-ray Synchrotron Neutron Tech*; 2019;13(4):586–93. <http://dx.doi.org/10.1134/s1027451019040177>

Vauthier C, Bouchemal K. Methods for the preparation and manufacture of polymeric nanoparticles. *Pharm Res*;2009;26(5):1025–58. <https://doi.org/10.1007/s11095-008-9800-3>

Weissig V, Elbayoumi T, Flühmann B, Barton A. The growing field of nanomedicine and its relevance to Pharmacy curricula. *Am J Pharm Educ*; 2021;85(8):8331. <https://doi.org/10.5688/ajpe8331>

Wu L, Zhang J, Watanabe W. Physical and chemical stability of drug nanoparticles. *Adv Drug Deliv Rev*;2011;63(6):456–69. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.02.001>

Zhi J, Wang Y, Luo G. Adsorption of diuretic furosemide onto chitosan nanoparticles prepared with a water-in-oil nanoemulsion system. *React Funct Polym*;2005;65(3):249–57. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2005.06.009>

Zielińska A, Carreiró F, Oliveira AM, Neves A, Pires B, Venkatesh DN, et al. Polymeric nanoparticles: Production, characterization, toxicology and ecotoxicology. *Molecules*;2020;25(16):3731. <https://doi.org/10.3390/molecules25163731>