



Razón y Palabra

Primera revista digital en América
Latina especializada en tópicos de
Comunicación

ISSN 1605-4806

Las nanopartículas sólidas lipídicas y los acarreadores lipídicos nanoestructurados en usos terapéuticos

Garzón Serra M.L.¹, García Fernández B.² Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco.

Introducción

La nanotecnología comprende el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control de la materia y la explotación de fenómenos y propiedades de la misma a nano escala (átomos y moléculas). Su impulso en la atención médica, se dio en 1953, cuando Watson y Crick propusieron al ADN como la pieza clave en la regulación de todos los procesos químicos de los seres vivos, destacando de esta manera la importancia determinante de las moléculas en los procesos de la vida. EL ADN tiene una anchura de unos 2.5 nm, y algunas proteínas como la hemoglobina, tienen un diámetro de unos 5 nm.

La nanomedicina es la rama de la nanotecnología aplicada en el campo de la salud, y el avance en esta rama de la ciencia está dirigida al diseño de las partículas, materiales y dispositivos nanométricos para que puedan entrar fácilmente en la mayoría de las células (10 y 20 micras) sin activar ninguna respuesta inmunitaria e interactuar con los materiales biológicos de una manera más directa, más eficiente e incluso más precisa que los sistemas y fármacos utilizados hasta la fecha, y que sean capaces de acceder a áreas del cuerpo a las que ha sido difícil penetrar con las tecnologías actuales.

¹ lgarzon@correo.xoc.uam.mx Tel: 5483 7268

² bgarciaf@correo.xoc.uam.mx Tel: 5483 7586

La nanomedicina a diferencia de la ingeniería genética no se ha llevado plenamente a la práctica dado a que no se conocen en su totalidad todas las repercusiones que a futuro tendría el uso de nanopartículas en los seres vivos, ni en el ambiente en el cuál serán eliminadas después de cumplir con su objetivo. A pesar de los avances logrados hasta la fecha, la legislación y regulación sanitaria sobre la elaboración, uso y desecho, de las nanopartículas no ha avanzado en forma eficiente. Sin embargo, los progresos actuales pueden sentar las bases para el desarrollo futuro de una tecnología basada en la manipulación detallada de las estructuras moleculares, que es donde se encuentran las alteraciones estructurales que provocan las enfermedades.

Los posibles beneficios que aportaría la nanomedicina parecen inagotables, proporcionando nuevos métodos de diagnóstico y cribaje de enfermedades, diferentes tipos de herramientas para el monitoreo de algunos parámetros biológicos, y mejores sistemas para la administración de fármacos, más eficaces, más seguros y menos tóxicos que otras formas de administración; sin embargo, el desarrollo de productos y sistemas cada vez más sofisticados serán económicamente inalcanzables para algunos sectores de la población. La Fundación Nacional de la Ciencia de Estados Unidos predice que en el 2015 la mitad del mercado de productos farmacéuticos usará nanotecnología, lo cual tendría un valor de 10 mil millones de dólares.

Transportadores lipídicos

El desarrollo científico y tecnológico tendiente a aumentar la efectividad de los medicamentos, ha conducido a nuevos diseños de los sistemas de administración de sustancias activas, con el propósito de depositar de forma efectiva y selectiva, las sustancias terapéuticas en concentraciones que maximicen su efectividad. Esto debe lograrse restringiendo el acceso de estas sustancias a las áreas no seleccionadas para su efecto, por lo que se considera que el transportador será uno de los factores más importantes para tener éxito en el traslado y localización del fármaco.

Existen un gran número de sistemas de suministro de sustancias activas, dentro de los que se encuentran las nanopartículas lipídicas sólidas

(SLN), desarrolladas a principios de 1990, como una alternativa a otros sistemas de fármacos como las emulsiones, liposomas y a las nanopartículas poliméricas. En su fabricación se conjuntan las ventajas de las partículas sólidas, con las de las emulsiones y las de los liposomas. Las SLN se han generado simplemente intercambiando el lípido líquido de las emulsiones, por un lípido sólido, lo que significa que son sólidas a la temperatura ambiente y también a la temperatura corporal. Son de forma esférica, con un diámetro entre 50 nm y 500 nm y al estar dispersas en un medio acuoso, forman un sistema coloidal (con una proporción de agua del 70-95%) que ha permitido el suministro de medicamentos de manera controlada y localizada.

Las ventajas de la utilización de las nanopartículas lipídicas como transportadores incluyen: la utilización de lípidos fisiológicos en su formulación, evitar el uso de solventes orgánicos en su preparación y la posibilidad de ser utilizadas en un espectro amplio para la administración sobre la piel, por vía oral y por vía intravenosa, mediante los medicamentos tradicionales como son las pomadas, tabletas, cápsulas, suspensiones o soluciones inyectables. Las nanopartículas lipídicas protegen las moléculas de fármacos susceptibles de degradarse bajo la influencia de agentes externos como la luz y el agua, presentan una mejor biodisponibilidad y podrían ser diseñadas para dar perfiles de liberación prolongada de sustancias activas poco solubles en agua, al incorporarlas en la matriz lipídica sólida. Entre sus desventajas estarían el posible crecimiento de las partículas durante su almacenamiento, la tendencia hacia una gelificación impredecible, la existencia de cambios inesperados en sus transiciones polimórficas y su inherente baja capacidad de incorporación de fármacos limitada por la estructura cristalina del lípido sólido.

Estructura de las SLN

Las nanopartículas lipídicas poseen un núcleo sólido lipídico que puede solubilizar fármacos lipofílicos. El núcleo se estabiliza con tensoactivos y co-tensoactivos que se adhieren a la superficie del lípido, creando una barrera física. Para su utilización con fines farmacéuticos todos los ingredientes utilizados en su preparación deben ser generalmente reconocidos como

materiales seguros (GRAS-Generally Recognized as Safe). Una representación esquemática de las nanopartículas lipídicas (NL) se presenta en la figura 1.

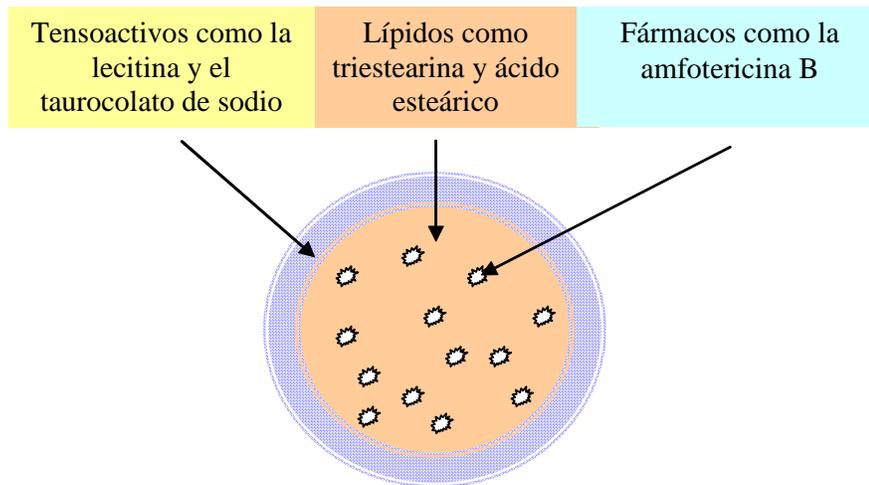


Figura 1. Representación esquemática de una nanopartícula lipídica sólida – SLN. (Jores, K y col 2003)

Las propiedades y la estabilidad de las SLN se han mejorado mediante la adición de lípidos líquidos en los que el fármaco generalmente es más soluble, dando lugar a nuevos sistemas nanoparticulares conocidos como acarreadores lipídicos nanoestructurados (NLC), que consisten en matrices formadas por un lípido solidificado con patrones cristalinos específicos, que incluyen nanocompartimentos de lípido líquido, en el cual va disuelto el fármaco. El propósito original de los NLC fue evitar la recristalización tanto de la fase lipídica así como de sustancias activas cargadas en ellos, para prevenir la separación de los fármacos. Sin embargo, a estos transportadores también se les ha encontrado utilidad para lograr la estabilización química de fármacos, para aumentar la solubilización de sustancias activas poco solubles y para facilitar la protección contra los rayos solares.

En las nanopartículas lipídicas sólidas pueden incorporarse diferentes tipos de fármacos de carácter lipofílico e hidrofílico, inclusive se han

incorporado aceites volátiles, con el propósito de protegerlos de la degradación y orientarlos hacia un objetivo específico mediante este sistema acarreador.

La capacidad de incorporación o capacidad de carga de las SLN se expresa como un porcentaje relativo a la fase lipídica. La capacidad de carga es variable y depende de algunos factores, un porcentaje típico se encuentra entre 1 y 5%, aunque se han reportado cargas de hasta 50%, dependiendo del sistema utilizado. Una primera consideración para tener una capacidad de carga elevada en las SLN es que el fármaco sea muy soluble en el lípido fundido; otras variables que influyen sobre su incorporación son la miscibilidad del fármaco fundido con el lípido fundido, la estructura física y química de la matriz lipídica sólida y el estado polimórfico del material lipídico. En el primer caso se deberá considerar que aunque la solubilidad del fármaco en la masa fundida sea alta, ésta disminuye con el enfriamiento y será menor en el lípido sólido.

En términos generales, el estudio de las SLN deberá estar dirigido a conocer su capacidad de carga y otras características en relación con su interacción con los fármacos, tales como dimensiones (cuestión limitante si se pretende utilizarlas por vía intravenosa), el tipo de asociación del fármaco con las partículas transportadoras y los posibles efectos del fármaco sobre las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas, como el potencial zeta, que será determinante en la probabilidad de crecimiento y la coalescencia.

Consideraciones generales para la elaboración de las SLN y NLC

Muchos investigadores han desarrollado y optimizando los procesos de obtención y escalamiento de las SLN y los NLC, combinando elementos de diferentes técnicas de ruptura y dispersión de la fase lipídica, tales como: la homogeneización a alta presión (en frío o en caliente), la microemulsificación con agitación a alta velocidad o por medio de ultrasonido, la emulsificación mediante evaporación o difusión del disolvente en el cual se encuentre disuelta la fase oleosa, la doble emulsificación (w/o/w) y la nanoesferonización a alta velocidad. La liberación de un compuesto lipofílico a partir de estos

acarreadores lipídicos, es el resultado de la combinación de varios mecanismos de partición entre las fases lipídicas que los constituyen, el tensoactivo y el medio acuoso que los rodea.

Los procesos de elaboración de las nanopartículas lipídicas incluyen en primer término la preparación de la fase oleosa mediante la fusión o disolución de las grasas, de tal manera que pierdan su estructura cristalina original. Los lípidos que formarán la matriz de las NL deberán seleccionarse considerando su capacidad para disolver el fármaco que constituye la carga, eligiendo aquellos en los que se presente el coeficiente de partición (o/w) más alto. La concentración del fármaco disperso o disuelto en la fase oleosa en la matriz, pudiera tener un efecto significativo en el tamaño y en la estructura de las partículas.

El incremento en la capacidad de carga de las NL requiere del acomodo del fármaco dentro de las imperfecciones de la matriz, para lo cual el lípido debe solidificar con un empacamiento cristalino poco ordenado y presentar grandes distancias intermoleculares. Esta situación se favorece utilizando diferentes tipos de ácidos grasos o adicionando una entidad química diferente, tal como un aceite. Si durante la etapa de enfriamiento del proceso de obtención, el lípido cristaliza antes que el fármaco, se podría producir una separación de fases debido a la expulsión de una parte del fármaco durante la cristalización de la matriz de lípidos, dando lugar a un núcleo con un recubrimiento enriquecido con fármaco, el cual permanece asociado con la parte sólida de las nanopartículas. Una vez que estas NL se suspendan en el medio de disolución, provocarían una liberación inicial intensa, circunstancia en la cual la liberación prolongada no sería posible. Este fenómeno podría ser el resultado de una carga excesiva, una temperatura elevada y una alta concentración de tensoactivos.

Los lípidos líquidos tienen mayor capacidad para solubilizar fármacos que los lípidos sólidos, lo que hace que los NLC presenten una mayor capacidad de incorporación y mejor control de la liberación que las SLN. Sin embargo, se considera que las dispersiones de NLC no presentan ninguna ventaja sobre las nanoemulsiones convencionales, por la probabilidad de que una porción de aceite y del fármaco incorporados a la matriz lipídica sólida,

sean expulsados de la masa del lípido fundido durante el enfriamiento y la cristalización.

Las características principales de las SLN y los NLC tales como: tamaño de partícula, grado de dispersión del tamaño, potencial zeta, eficiencia de carga y cinética de liberación, están determinadas por la naturaleza de la matriz de lípido, por la mezcla de tensoactivos, la viscosidad de la fase lipídica, la viscosidad de la fase acuosa en el momento de la emulsificación, y también por los parámetros de producción, principalmente por las condiciones de homogeneización y la temperatura.

El diseño de las nanopartículas lipídicas se podría realizar a la medida, de acuerdo a sus propiedades de liberación. Se ha observado que los triglicéridos de cadenas medianas, tienen la capacidad de remplazar de forma aleatoria hasta un 16% de una estructura sólida formada por otros lípidos, formando gotas en el interior de los NLC. Los ácidos grasos naturales constituidos por cadenas de C₁₄ a C₂₄, se pueden utilizar con este fin, y aunque podrían incrementar los niveles de colesterol sérico, se prefieren por su mejor tolerancia. Los triglicéridos (Tricaprina, Trilaurina, Trimiristina, Tripalmitina, triestearina), los monoglicéridos (monoestearato de glicerol, behenato de glicerol, palmito-estearato de glicerol) y ácidos grasos (esteárico, palmítico, decanóico y behénico), ceras (palmitato de cetilo) y aceites (alfa tocoferol y ésteres cáprico-caprílicos), son los materiales más utilizados. También se encuentran algunos complejos cíclicos como las ciclodextrinas y los para-acil-calix-arenos.

La segunda etapa del proceso consiste en la preparación de la fase acuosa, la cual generalmente es una disolución de alta concentración de tensoactivos. La naturaleza y concentración de los tensoactivos o emulsificantes, tienen gran impacto en las propiedades físicas de las nanopartículas lipídicas, puesto que son adsorbidos en la superficie de las gotas de grasa, formando una barrera estérica que les imparte estabilidad física e impacta en el tamaño de partícula, potencial zeta, su estabilidad química y sus propiedades biofarmacéuticas. Su naturaleza y concentración debe ser determinada en cada caso. Sin embargo, muchos de ellos son poco tolerados por el cuerpo humano.

Las mezclas de tensoactivos generalmente tienen un efecto sinergista, produciendo una película interfacial con alta capacidad de recubrimiento y con viscosidad suficiente para disminuir la agregación de las partículas durante la producción y el almacenamiento. La adición de co-emulsificantes mejora la estabilidad física de las partículas al incrementar los efectos estéricos y la rigidez de la película externa, y también al modificar la carga superficial de las partículas. Los estabilizadores también pueden tener un efecto pronunciado en el tiempo de aparición de las transiciones polimórficas de los triglicéridos que conforman las nanopartículas.

Entre los tensoactivos y co-tensoactivos más utilizados se encuentran: fosfolípidos como la lecitina de soya, lecitina de huevo y fosfatidilcolina; copolímeros de óxido de etileno-óxido de propileno como el Poloxámero 188, Poloxámero 182, Poloxámero 407, Poloxamina 908; copolímeros de óxido de etileno y sorbitan/óxido de propileno como el Polisorbato 20, Polisorbato 60, Polisorbato 80; polímeros poliéteres de alcohol alquil-arílico como el Tyloxapol; sales biliares como el colato de sodio, glicolato de sodio, taurocolato de sodio y taurodeocolato de sodio; alcoholes como el etanol y butanol; polímeros estabilizadores tales como alcohol polivinílico (PVA) y polivinilpirrolidona (PVP).

La tercera etapa en la elaboración de las NL consiste en la formación de una pre-emulsión, mezclando la fase oleosa y la acuosa en frío o en caliente, mediante agitación mecánica vigorosa o ultrasonido. La disgregación de las gotas del lípido (fundido o disuelto) en partículas nanométricas requiere de suficiente energía, por lo que el uso de homogeneización a alta velocidad o a presión, debe llevarse a cabo durante varios ciclos.

Los parámetros involucrados en el proceso de preparación de las SLN así como la relación lípido:lípido, lípido:tensoactivo, deben optimizarse con el fin de obtener el tamaño de partícula, eficiencia de encapsulamiento, disponibilidad biológica y estabilidad deseadas. Por ejemplo, recientemente se han desarrollado SLN con carga superficial positiva, como transportadores alternos para el suministro del ADN utilizado en terapia génica no viral dirigida a receptores específicos, debido a las ventajas tecnológicas que tienen estos vectores sobre otros utilizados con esa finalidad. Las SLN catiónicas forman

complejos con ADN y le protegen contra otras moléculas del medio y contra la digestión provocada por las ADNasas.

La última etapa consiste en la concentración y purificación de la dispersión acuosa de NL mediante procesos de evaporación, ultracentrifugación, ultrafiltración, secado o liofilización (mediante la adición de crioprotectores como trehalosa, manosa, maltosa, fructuosa, PVP o PVA), lo que permitirá facilitar su manejo y administración.

La tabla 1, muestra las diferentes etapas del proceso de obtención de las NL y las variables que afectan sus características finales.

Parte del proceso	Variable
Homogeneización y emulsificación:	<ul style="list-style-type: none"> • Presión y número de ciclos • Tipo y velocidad de agitación (mecánica, sonicación) • Forma de adición de tensoactivos • Temperatura
Emulsificación con disolvente:	<ul style="list-style-type: none"> • Naturaleza del disolvente. • Naturaleza de la fase acuosa • Presencia de polímeros hidrofílicos • Temperatura de las fases • Agitación
Concentración y purificación de la dispersión mediante secado, centrifugación y/o ultrafiltración	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura • Velocidad • Tipo de membrana
Liofilización:	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia de crioprotectores • Temperatura de congelamiento • Velocidad y temperatura de sublimación

Tabla 1.- Principales variables que intervienen en el método de obtención de NL.

Formas de administración

Como ya se mencionó, las dispersiones de SLN o de NLC, pueden ser incorporadas a diferentes formas farmacéuticas que facilitan su administración y permiten alcanzar el sitio del organismo en donde van a liberar su activo o producir su efecto. Las dispersiones de NL con viscosidad alta, pueden ser utilizadas como agentes granulantes en la elaboración de sólidos orales. Si su uso va a ser por vía parenteral, deben someterse a un proceso de purificación que permita la eliminación del alto contenido de tensoactivos presentes, ajustar la isotonicidad, esterilizarse y, si se requiere liofilizarse, lo cual incrementa su estabilidad física.

El uso tópico de productos nanoestructurados en dermatología, ha representado un avance considerable en la absorción de los activos y su penetración hasta las capas más profundas de la piel; las estructuras biocompatibles de las SLN y los NLC que se utilizan para revestir y/o cargar activos permiten modular su liberación, y proporcionan mayor estabilidad a los componentes de la fórmula, mejorando los resultados. Un ejemplo es el transportador lípido nanoestructurado formado por ácido esteárico conteniendo diferentes proporciones de ácido oleico.

El fenómeno de gelificación en las dispersiones de NL para la preparación de formulaciones dermatológicas conteniendo fármacos lipofílicos, se realiza mediante la adición de carbopol, goma de xantana o carragenina, resultando geles con perfiles de liberación del fármaco más prolongados, más seguros y menos irritantes. También se emplean mezclas de poliacrilamida:glicerol o de dextran con glicidil metacrilato. Debido a la capacidad hidratante de los componentes, el gel disminuye la evaporación y el grado de transiciones polimórficas de los lípidos que constituyen la matriz de las NL.

La incorporación de NL en formulaciones dérmicas tiene dos objetivos principales: el primero consiste en restaurar la acción normal de la piel en caso de sufrir alguna enfermedad debida a infecciones, inflamaciones o algún otro padecimiento (ámbito farmacéutico); el segundo tiene como objetivo mantener la piel en buenas condiciones para retardar el envejecimiento debido a factores

externos como oxidación, deshidratación, efecto de los rayos UV, entre otros factores (aspecto cosmético).

Los productos dérmicos para retardar el envejecimiento, son en la actualidad el mejor ejemplo de aplicación de nanocosméticos. Diversos estudios han demostrado que las SLN en sí mismas tienen una acción humectante sobre la piel, debido a que ejercen un efecto oclusivo que retarda la pérdida normal del agua contenida en la epidermis, manteniéndola hidratada. Presentan también la ventaja de tener un efecto reflejante de la luz ultravioleta del sol, actuando como protectores solares.

El aspecto cosmético de los productos, así como la sensación que dejan al aplicarlos sobre la piel es muy importante. El uso de protectores solares nanoparticulados, como es el caso del dióxido de titanio y el óxido de zinc ha permitido la transparencia de los productos, aumentando la aceptación de los usuarios y en consecuencia una mejor protección contra la aparición de cáncer en piel.

La tabla 2 ejemplifica algunos de los productos nanoparticulados existentes en el mercado y que se utilizan tanto para la vía de administración tópica como para obtener una acción sistémica.

FÁRMACO	APLICACIÓN	REFERENCIA
aceite esencial de <i>Artemisia arborescens</i>	Sistémica	Lai y col. 2006
ADN (terapia génica)	Sistémica	Asasutjarit y col. 2007
Anfotericina B	Sistémica	Jores y col. 2003
avidina-biotina	Sistémica	Béduneau y col. 2007
camptotecina.	Sistémica	Yang y Zhu. 2002
citrato de tamoxifen	Sistémica	Reddy y col. 2006
clorhidrato de pilocarpina	Sistémica	Yoncheva y col. 2003
clotrimazol	Tópica	Souto y col. 2004
clozapina	Sistémica	Venkateswarlu y Manjunath. 2004
Coenzima Q 10	Tópica	Hsu y col. 2003

contra el cáncer como el etoposide, el docetaxel y el paclitaxel	Sistémica	Béduneau y col. 2007
Dióxido de titanio	Tópica	Cengiz y col. 2006
5-Fluorouracilo	Sistémica	Hitzman y col. 2006
ibuprofén	Tópica	Casadei y col. 2006
insulina	Sistémica	Liu y col. 2007(b)
isotretinoína.	Sistémica	Liu y col 2007 (a)
ketoconazol	Tópica	Souto y Müller. 2005
mifepristona	Sistémica	Hou y col. 2003
N,N-Diethyltoluamida (DEET)	Tópica	Iscan y col. 2005
n-dodecyl-ferulato	Sistémica	Souto y col. 2005
oxybenzone	Tópica	Wissing y Müller. 2002
Peptide	Sistémica	Müller y Keck. 2004
péptidos	Sistémica	Hu y col. 2004
Perfumes	Tópica	Wissing y col. 2000
Propionato de clobetazol	Sistémica	Hu y col. 2006
Retinoides	Tópica	Hu y col. 2005, Jee y col. 2006
Tetracaina y el etomidato	Sistémica	Mehnert y Mäder. 2001
tripolide	Sistémica	Mei y col. 2005
Vitamina A	Tópica	Pople, y Singh. 2006

Tabla 2. Algunos fármacos dosificados en SLN y NLC

En este trabajo se han presentado los aspectos más relevantes con relación a estructura, obtención, propiedades y aplicaciones de las nanopartículas sólidas lipídicas y los acarreadores lipídicos nanoestructurados. Si se requiere mayor información, se recomienda consultar las siguientes fuentes: Garzón y col. (2008), Villafuerte y col. (2008), Pardeike y col. (2009).

También las referencias incorporadas en la tabla 2, presentan información en relación a las formulaciones, métodos de obtención y evaluación de las nanopartículas lipídicas.

Bibliografía

Asasutjarit R., Lorenzen S.I., Sirivichayakul S., Ruxrungtham K., Ruktanonchai U., Ritthidej G.C. 2007. Effect of solid lipid nanoparticles formulation compositions on their size, zeta potential and potential for in vitro pHIS-HIV_Hugag transfection. *Pharmaceutical Research*, 24(6):1098-1107.

Béduneau A., Saulnier P., Benoit J.P. 2007. Active targeting of brain tumors using nanocarriers. *Biomaterials*, 28:4947–4967.

Casadei M-A., Cerreto F., Cesa S., Giannuzzo M., Feeney M., Marianecchi C., Paolicelli P. 2006. Solid lipid nanoparticles incorporated in dextran hydrogels: a new drug delivery system for oral formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 325:140-146.

Cengiz E., Wissing S. A., Müller R. H., Yazan Y. 2006. Sunblocking efficiency of various TiO₂-loaded solid lipid nanoparticle formulations. *International Journal of Cosmetic Science*, 28: 371–378.

Garzón M.L., Hernández A., Vázquez M.L., Villafuerte L., García B. 2008. Preparación de nanopartículas sólidas lipídicas (SLN), y de Acarreadores lipídicos nanoestructurados (NLC). *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 39(4):50-71.

Hitzman C. J., Elmquist W. F., Wiedmann T. S. 2006. Development of a Respirable, Sustained Release Microcarrier for 5-Fluorouracil II: In Vitro and In Vivo Optimization of Lipid Coated Nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 95 (5), 1127-1143.

Hou D. Z., Xie Ch. S., Huang K. J., Zhu Ch. H. 2003. The production and characteristics of solid lipid nanoparticles (SLNs). *Biomaterials*, 24:1781–1785.

Hsu C-H, Cui Z, Mumper R.J., Jay M. 2003. Preparation and Characterization of Novel Coenzyme Q₁₀ Nanoparticles Engineered from Microemulsion Precursors. *AAPS PharmSciTech*, 4(3): article 32.

Hu F.Q., Hong Y., Yuan H. 2004. Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles containing peptide. *International Journal of Pharmaceutics*, 273:29-35.

Hu F.Q., Jiang S.P., Du Y.Z., Yuan H., Ye Y.Q., Zeng S. 2006, Preparation and characterization of monostearin nanostructured lipid carriers. *International Journal of Pharmaceutics*, 314:83-89.

Hu LD., Tang X., Cui F.D. 2005. Preparation of solid lipid nanoparticles loaded with all-trans retinoic acid and their evaluation in vitro and in vivo. *Yao Xue Xue Bao*, 40:71–75.

Iscan Y., Wissing S.A., Hekimoglu S., Muller,R.H. 2005. Solid lipid nanoparticles (SLN) for topical drugdelivery: incorporation of the lipophilic drugs N,Ndiethyl-m-toluamide and vitamin K. *Pharmazie*, 60:905–909.

Jee J.P., Lim S.J., Park J.S., Kim C.K. 2006. Stabilization of all-trans retinol by loading lipophilic antioxidants in solid lipid nanoparticles. *Eur .Pharm.Biopharm*, 63:134–139.

Jores K., Mehnert W., Bunjes H., Drechsler M., Mäder K. 2003. From solid lipid nanoparticles (SLN) to nanospoons. Visions and reality of colloidal lipid dispersions. Controlled release Society, 30th Annual Meeting proceedings.

Lai F., Wissing, S. A., Müller R. H., Fadda A. M. 2006. Artemisia arborescens L Essential Oil-Loaded Solid Lipid Nanoparticles for Potential Agricultural Application: Preparation and Characterization. *AAPS PharmSciTech*. 7 (1): Artículo 2. DOI: 10.1208/pt070102.

- Liu J., Hu W., Chen H., Ni Q., Xu H., Yang X. 2007(a). Isotretinoin-loaded solid lipid nanoparticles with skin targeting for topical delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 328:191-195.
- Liu J., Gong, T., Wang Ch., Zhong Z., Zhang Z. 2007(b). Solid lipid nanoparticles loaded with insulin by sodium cholate-phosphatidylcholine-based mixed micelles: Preparation and characterization. *International Journal of Pharmaceutics*, 340:153–162.
- Mehnert W., Mäder K. 2001. Solid lipid nanoparticles. Production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*,47(2-3):165-196.
- Mei Z., Wu Q., Hu S., Li X. 2005. Triptolide Loaded Solid Lipid Nanoparticle Hydrogel for Topical Application. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 31:161–168.
- Müller R.H., Keck C.M. 2004. Challenges and solutions for the delivery of biotech drugs: a review of drug nanocrystal technology and lipid nanoparticles. *Journal of biotechnology*, 113:151-170.
- Pardeike J., Hommoss A., Müller R.H. 2009. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. *International Journal of Pharmaceutics*, 366:170-184.
- Pople P. V., Singh K. K. 2006. Development and evaluation of topical formulation containing solid lipid nanoparticles of vitamin A. *AAPS PharmSciTech* 7(4) artículo 91 (<http://www.aapspharmstech.org>).
- Reddy L.H, Vivek K., Bakshi N., Murthy R.S.R. 2006. Tamoxifen citrate loaded solid lipid nanoparticles (SLN): preparation, characterization, in vitro drug release and pharmacokinetic evaluation. *Pharmaceutical Development Technology*, 11:167-177.
- Souto E.B., Anselmi C., Centini M., Müller R.H. 2005. Preparation and characterization of n-dodecyl-ferulate-loaded solid lipid nanoparticles (SLN). *International Journal of Pharmaceutics*, 295:261-268.
- Souto E.B., Müller R.H. 2005. SLN and NLC for topical delivery of ketoconazole. *Journal of Microencapsulation*, 22(5): 501-510.
- Souto E.B., Wissing S.A., Barbosa C.M., Müller R.H. 2004. Development of a controlled release formulation based on SLN and NLC for topical clotrimazole delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 278:71-77.
- Venkateswarlu V., Manjunath K. 2004. Preparation, characterization and in vitro release kinetics of clozapina solid lipid nanoparticles. *Journal of Controlled Release*, 95:627-638.
- Villafuerte L., García B., Garzón M.L., Hernández A., Vázquez M.L. 2008. Nanopartículas sólidas lipídicas. *Rev. Mex de Ciencias Farmacéuticas*. 39(1):38-52.
- Watson J., Crick F., 1953. Molecular structure of nucleic acids. *Nature*, 171:737-738.
- Wissing S.A., Müller R.H. 2002. Solid lipid nanoparticles as carrier for sunscreens: in vitro release and in vivo skin penetration. *Journal of Controlled Release*, 81:225–233.
- Wissing SA., Mäder K., Müller, R.H. 2000. Solid lipidnanopartices (SLN) as a novel carrier system offering prolonged release of the perfume Allure (Chanel). *In Proc. Int. Symp. Control Rel Bioact Mater*, 27:311–312.
- Yang S.C., Zhu J.B. 2002. Preparation and characterization of camptothecin solid lipid nanoparticles. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 28(3):265-274.
- Yoncheva K., Vandervoort J., Ludwig A. 2003. Influence of process parameters of high-pressure emulsification method on the properties of pilocarpine-loaded nanoparticles. *Journal of Microencapsulation*, 20(4):449-458.