

FORMULACIÓN DE PRODUCTOS NATURALES EN SISTEMAS DE LIBERACIÓN MICRO- Y NANOPARTICULADOS

**Brenda Armendáriz-Barragán¹,
Rocío Álvarez-Román², Sergio Arturo Galindo-Rodríguez¹**

¹Laboratorio de Química Analítica, Facultad de Ciencias Biológicas,
Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

²Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, México.
brenda.armendarizbr@uanl.edu.mx, ralvarez@fm.mx,
sergio.galindord@uanl.edu.mx

<http://dx.doi.org/10.3926/oms.338>

Armendáriz-Barragán, B., Álvarez-Román, R., & Galindo-Rodríguez, S.A. (2016). Formulación de productos naturales en sistemas de liberación micro- y nanoparticulados. En Rivas-Morales, C., Oranday-Cardenas, M.A., & Verde-Star, M.J. (Eds.). *Investigación en plantas de importancia médica*. Barcelona, España: OmniaScience. 411-436.

Resumen

Recientemente, los sistemas micro- y nanoparticulados se han utilizado para la protección y la administración de productos naturales. Las propiedades fisicoquímicas de los sistemas particulados permiten la incorporación de compuestos de diversa naturaleza y polaridad (i.e. extractos, aceites esenciales, compuestos aislados). Así mismo, la encapsulación de productos naturales puede reducir la toxicidad y los efectos secundarios de los compuestos activos. Además, con estos sistemas se puede promover el biodireccionamiento a células, órganos o tejidos blanco afectados por diversos padecimientos. Particularmente, las micropartículas, los liposomas, las nanopartículas poliméricas, las nanopartículas sólidas lipídicas y las ciclodextrinas, entre otros sistemas de liberación, han sido aprovechados para la formulación de productos naturales, demostrando en estudios tanto *in vitro*, como *in vivo*, su potencial aplicación para mantener y, en ocasiones, aumentar la actividad biológica de productos naturales. Estas formulaciones podrían ser empleadas en diversas aplicaciones dentro de las áreas farmacéutica, agroquímica, cosmética y de alimentos.

Palabras clave

Nanopartículas poliméricas, micropartículas, formulación, productos naturales, aceite esencial.

12.1. Introducción

El uso de los sistemas de liberación micro- y nanoparticulados en el área farmacéutica y, más específicamente, en la administración de principios activos se ha incrementado notablemente durante los últimos años. Principalmente, se han utilizado para reducir la toxicidad y los efectos secundarios de los fármacos, así como para otorgarles protección. Además, el uso de dichos sistemas permite el biodireccionamiento a células, órganos o tejidos blanco afectados por diversos padecimientos. Debido a sus propiedades fisicoquímicas, estos sistemas permiten la formulación de compuestos biológicamente activos de diversa naturaleza, dentro de los que destacan los productos naturales, tales como extractos de diferentes polaridades, aceites esenciales y compuestos activos aislados.

La encapsulación de principios activos, además de reducir la reactividad de los compuestos con el ambiente (i.e. agua, luz, oxígeno) y disminuir su evaporación o su transferencia hacia el medio ambiente, también permite enmascarar sabores y promover la distribución uniforme de los activos en los productos finales cuando se utilizan en baja concentración.

Particularmente, las micropartículas, los liposomas, las nanopartículas poliméricas, las nanopartículas sólidas lipídicas y las ciclodextrinas, entre otros sistemas de liberación, han sido aprovechados para la formulación de productos naturales. Diversas formulaciones han demostrado su potencial aplicación para mantener y, en ocasiones, aumentar la actividad biológica evaluada de productos naturales. Formulaciones con capacidad antioxidante, antimicrobiana, antifúngica, anticancerígena, conservadora de alimentos y cosmética han sido desarrolladas y probadas con éxito tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*.

A lo largo del presente capítulo se abordará de manera puntual cada uno de los sistemas particulados que se han utilizado para la incorporación y formulación de productos naturales, destacando sus propiedades, así como, sus ventajas y desventajas.

12.2. Micropartículas

Las micropartículas fueron el principal objetivo de investigación y desarrollo en el área farmacéutica durante los años 80's. Los sistemas microparticulados pue-

den proveer la liberación sostenida y prolongada de principios activos durante un período prolongado de tiempo. Estos sistemas son partículas sólidas (microesferas) o pequeñas gotas de líquido rodeado de una pared constituida por polímeros (microcápsulas) naturales o sintéticos; éstos presentan diferente peso molecular y grado de permeabilidad, permitiendo así la liberación de una cantidad controlada de activo (Figura 1). Las micropartículas tienen un tamaño entre 1 y 1000 μm , lo cual funcionalmente depende de su aplicación y de la sustancia que incorporen (Joye & McClements, 2014).

Dentro de las principales ventajas que presentan las micropartículas, como formas de liberación de productos naturales, podemos mencionar las siguientes:

- Protección de moléculas inestables y compuestos sensibles al medio biológico en el que se aplican.
- Incremento de la solubilidad, dispersibilidad y fluidez de principios activos.
- Aumento de la vida media del principio activo.
- Enmascaramiento del olor y sabor que pueden presentar los productos naturales.
- Liberación sostenida de los compuestos activos, lo cual permite disminuir el tiempo de administración y el número de dosis.
- Reducción de los efectos secundarios de compuestos biológicamente activos.

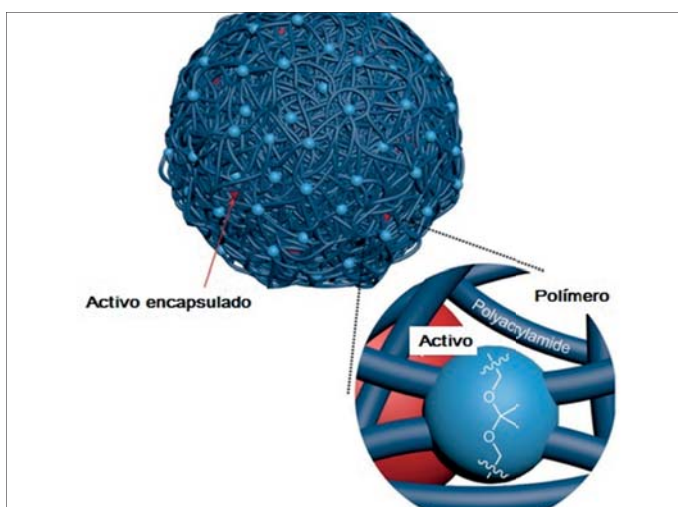


Figura 1. Estructura de una microesfera

En particular, los productos naturales presentan compuestos inestables, los cuales pueden sufrir oxidación, volatilización o pueden reaccionar con otros componentes cuando se tratan de incorporar en una formulación. La microencapsulación es una alternativa factible para incrementar la estabilidad de los productos naturales destinados a la aplicación en humanos o en el medio ambiente (Tiwari et al., 2012).

Los aceites esenciales presentan actividades biológicas que pueden ser aprovechadas en la preparación de productos farmacéuticos, cosméticos, alimenticios y agroquímicos (i.e. biopesticidas). Dichas propiedades biológicas dependen de los compuestos químicos que los constituyen, los cuales dependen a su vez del origen de la planta. Existen numerosos ejemplos de formulaciones elaboradas a partir de aceites esenciales incorporados en micropartículas.

El aceite esencial de citronela es bien conocido por su amplio espectro antimicrobiano. Leimann y col. desarrollaron micropartículas de citronela, obteniendo formulaciones en un rango de tamaño de 10 a 250 μm . Los ensayos de actividad antimicrobiana de las micropartículas cargadas con citronela mostraron mantener la actividad biológica del aceite esencial libre en 22.32 y 2.89 mg/mL contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, respectivamente. Si bien, las micropartículas cargadas no aumentaron la actividad antimicrobiana del aceite de citronela, es destacable el hecho de que la actividad de los compuestos presentes en el aceite no fue afectada por el proceso de encapsulación (Leimann, Gonçalves, Machado & Bolzan, 2009).

En otro estudio, considerando la actividad antioxidante que presenta el aceite esencial de orégano, S. B. Da Costa y col. incorporaron el aceite en diferentes microcápsulas elaboradas con almidón de arroz, inulina o gelatina/sucrosa. La formulación elaborada con gelatina/sucrosa exhibió una alta capacidad antioxidante y antimicrobiana, mientras que las formulaciones de inulina y almidón de arroz presentaron una mayor estabilidad en función del tiempo. Los resultados mostraron que la composición de las micropartículas es un factor determinante para la expresión de la actividad biológica que presentan los aceites esenciales por sí mismos (Beirão da Costa et al., 2012).

El aceite esencial de romero ha sido utilizado para la preservación de alimentos y como medicamento antiséptico o astringente. En particular, el aceite de romero posee una gran cantidad de constituyentes fenólicos, los cuales le confieren un

marcado efecto antioxidante. Así, con el objetivo de encontrar la formulación óptima que permitiera la aplicación del aceite en alimentos, se elaboraron micropartículas a partir de maltodextrina y un concentrado de proteína en distintas proporciones. Los resultados mostraron que una relación 3:1 del concentrado de proteína:maltodextrina fue la que presentaba la mayor eficiencia de encapsulación del aceite (96%). Además, la formulación mostró una alta retención del aceite hasta por 30 d en condiciones de almacenaje (Turasan, Sahin & Sumnu, 2015).

En cuanto a la microencapsulación de extractos naturales, algunos esfuerzos se han centrado en desarrollar formulaciones con un alto contenido de antioxidantes para que puedan ser utilizadas como ingredientes funcionales de alimentos. En este contexto, extractos de chile, nopal y champiñones han sido microencapsulados. Particularmente, el nopal ha sido de gran interés en la industria de alimentos debido a su alto contenido nutrimental y a los diversos colorantes naturales que pueden ser obtenidos a partir de sus extractos. La microencapsulación ha mostrado que puede inhibir el proceso de degradación de las betacianinas y la betalaina (colorantes presentes en el extracto de nopal), lo que presenta la posibilidad de utilizar estas formulaciones como protectores de colorantes naturales en alimentos (Guadarrama-Lezama et al., 2012; Robert, Torres, García, Vergara & Sáenz, 2015; Vergara, Saavedra, Sáenz, García & Robert, 2014).

Por otra parte, debido al alto contenido de compuestos polifenólicos y carotenoides, los extractos obtenidos a partir de chile han mostrado poseer propiedades antimicrobiana, antioxidante y vitamínica. El desarrollo de diversas microcápsulas a partir de dichos extractos, utilizando aceites de maíz, girasol y cártamo, mostró que la retención de la actividad antioxidante variaba del 76 al 80% para los diferentes extractos; además la preservación de los carotenoides en las microcápsulas fue entre 84 y 86% (Peng et al., 2014). En otro estudio, extractos hidroalcohólicos de diversas especies de champiñones fueron evaluados para probar su efecto antioxidante y su viabilidad como ingredientes funcionales de alimentos, particularmente, en queso *cottage*. La incorporación de los extractos resultó en un producto con alta actividad antioxidante que declinó al cabo de siete días. Así mismo, el queso *cottage* adicionado con los extractos microencapsulados mostró una baja actividad antioxidante inicial con un posterior incremento al cabo del séptimo día. Los resultados demostraron no solo la efectiva protección de los extractos otorgada por las micropartículas sino también la liberación controlada de los compuestos activos a partir de este tipo de sistemas (Ribeiro et al., 2015).

El aislamiento de compuestos químicos que presentan actividades biológicas relevantes es otra rama importante en el estudio de los productos naturales. Las micropartículas son sistemas que proporcionan protección y estabilidad a los compuestos aislados. Por ejemplo, extractos obtenidos a partir de granada mostraron tener una alta cantidad de compuestos fenólicos, los cuales podrían ser utilizados para elaborar alimentos funcionales. Cam y col. elaboraron micropartículas cargadas de polifenoles aislados (i.e. punicalagina y ácido elágico) a partir de la cáscara de granada. Las micropartículas presentaron un tamaño de 10 μm y una eficiencia de encapsulación de 98%, considerando los polifenoles totales presentes. Además, las micropartículas mostraron un mayor contenido de polifenoles después de un almacenamiento de 3 meses, en comparación con formulados de polvos ricos en polifenoles. Con dichos resultados los autores consideraron que la formulación puede ser adicionada a alimentos, como la nieve, para aumentar sus propiedades funcionales, específicamente, la antioxidante y la capacidad inhibitoria de la α -glucosidasa (Çam, Içyer & Erdoğan, 2014).

En otro estudio, timol obtenido a partir del tomillo se encapsuló con polímeros naturales con el objetivo de enmascarar su sabor y emplearlo como un fármaco herbal a manera de coadyuvante o sustituto de tratamientos en diversas enfermedades. En estudios *in vitro* se determinó que una formulación de timol en micropartículas presentó una vida media corta, pero su biodisponibilidad se incrementó en comparación con el timol libre. Esto sugirió que dichas formulaciones podrían ser utilizadas en el control de enfermedades infecciosas en humanos o animales (Rassu et al., 2014).

12.3. Liposomas

Los liposomas son vesículas esféricas cuyo centro está ocupado por una cavidad acuosa y cuya envoltura está constituida por un número variable de hojas bimoleculares a base de fosfolípidos (Figura 2). Su diámetro es muy pequeño, cercano o inferior a un micrómetro, lo que les permite ser captados por las células. Utilizados inicialmente como modelos de membrana, los liposomas han sido propuestos, desde hace decenas de años, como vectores intracelulares de fármacos. El uso de los liposomas como sistemas de liberación de principios activos farmacéuticos se basa en sus características y propiedades intrínsecas:

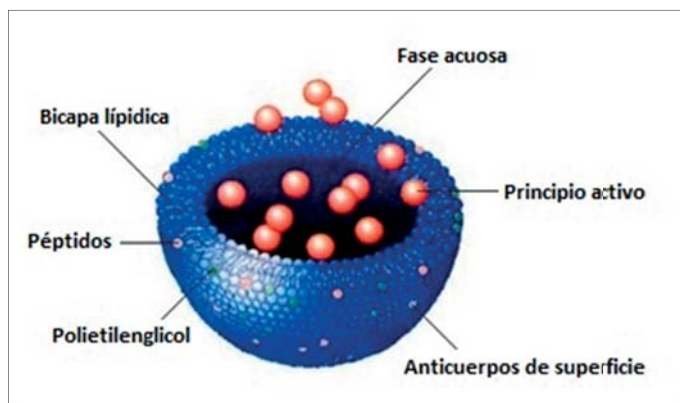


Figura 2. Estructura de un liposoma

- Pueden presentar una liberación lenta de los activos, principalmente, debido a su lento perfil de liberación y eliminación renal reducida.
- Es posible la evasión de tejidos específicos, debido a que su patrón de biodistribución puede concentrar al activo en un tejido específicamente sensible al activo liberado.
- Es probable una acumulación en tumores, ya que, al presentar un tiempo de circulación prolongado, los liposomas se pueden acumular en tejidos con permeabilidad vascular, tales como tumores y nódulos linfáticos.

Los liposomas fueron uno de los primeros sistemas particulados utilizados para la dosificación de productos naturales. Comparados con formas de dosificación como las emulsiones, los liposomas exhiben ventajas importantes, como, biocompatibilidad, liberación controlada y tamaño relativamente pequeño. Diferentes formulaciones, con potencial aplicación en alimentos, tratamientos antimicrobianos y productos cosméticos, han sido desarrolladas durante los últimos años. Por ejemplo, la utilización de los carotenoides como ingredientes nutraceuticos está limitada debido a su baja biodisponibilidad asociada a su baja solubilidad y pobre estabilidad fisicoquímica. Así, se han realizado estudios de monitoreo para liposomas cargados de licopeno, luteína, β -caroteno y cantaxantina a través de diferentes medios de digestión artificial. Estos estudios han demostrado que los liposomas son sistemas que pueden proteger y modular la liberación de luteína y β -caroteno durante el proceso de digestión. Debido a este comportamiento, se

ha propuesto a los liposomas para la elaboración de alimentos enriquecidos con carotenos que funcionen como nutraceuticos (Tan et al., 2014).

Así mismo, se han formulado liposomas de fosfolípidos de soya cargados con aceite esencial de clavo con el objetivo de incrementar la estabilidad de uno de sus componentes principales, el eugenol. Primeramente, se realizó la caracterización fisicoquímica de las formulaciones de liposomas. Posteriormente, se realizaron estudios de estabilidad. Después de 2 meses de almacenamiento se encontró que los liposomas protegían al eugenol de la degradación inducida por exposición a radiaciones UV y, además, mantenían la actividad de captación del radical DPPH. Esto indicó que los liposomas constituían un sistema adecuado para la protección y la liberación de constituyentes de aceites esenciales (Sebaaly, Jraj, Fessi, Charcosset & Greige-Gerges, 2015) .

Los liposomas también pueden proveer la protección necesaria contra la oxidación a compuestos con actividad antimicrobiana. Recientemente se elaboraron formulaciones de carvacrol y timol (aislados del orégano) con liposomas constituidos de fosfatidilcolina. La incorporación de éstos en alimentos proporcionó un efecto conservador al inhibir el crecimiento de microorganismos contaminantes o patógenos. En particular, la actividad antimicrobiana de la formulación fue probada contra *Lysteria monocitogenes*, microorganismo contaminante de gran importancia en la industria alimenticia. El timol encapsulado presentó mayor inhibición de *L. monocitogenes* en comparación con el compuesto no encapsulado, indicando que los liposomas de fosfatidilcolina pueden interactuar con la membrana celular de los microorganismos, aumentando la actividad antimicrobiana de compuestos encapsulados (Liolios, Gortzi, Lalas, Tsaknis & Chinou, 2009).

El extracto etanólico de *Glycyrrhiza glabra* (regaliz) es rico en glicirrizina, un triterpenoide que ha demostrado tener efectos farmacológicos parecidos a los glucocorticoides, al inhibir el proceso de la inflamación. Liposomas a base de fosfatidilcolina con glicirrizina fueron desarrollados con el objetivo de diseñar una formulación con acción antiinflamatoria para aplicación tópica. Los liposomas presentaron un tamaño menor a 100 nm, con alta estabilidad y con una eficiencia de incorporación elevada del extracto (87%). Las pruebas *in vitro* mostraron estabilidad por tiempo prolongado, con un 80% de inhibición en la captación del radical DPPH y con la capacidad para proteger a los fibroblastos 3T3 contra el estrés oxidativo inducido por H₂O₂. Adicionalmente, los liposomas cargados estimularon la proliferación y migración de los fibroblastos 3T3, favoreciendo

así la cicatrización de las áreas lesionadas (proceso de repitelización) (Castangia et al., 2015).

Si bien los liposomas presentan ventajas únicas como sistemas de administración para los productos naturales, también presentan efectos de carácter toxicológico. De manera general, los liposomas están caracterizados por poseer una buena inocuidad, pero la presencia de algunos constituyentes pueden presentar cierta toxicidad. La esterilamina, por ejemplo, parece tener cierta toxicidad celular y se ha demostrado que los liposomas pueden provocar la aglutinación de hematíes e incluso hemólisis. Los efectos tóxicos, igualmente, aparecen en ratones después de la inyección intercerebral de liposomas que contienen esterilamina y de fosfato de diacetilo. En cuanto al poder inmunógeno que poseen los liposomas, numerosas investigaciones han demostrado que los liposomas constituidos por esfingomielina son inductores de anticuerpos, al contrario de aquellos que están constituidos por fosfatidilcolina para los cuales la respuesta inmune ha sido baja o nula (Buri, Puisieux, Doelker & Benoit, 1985).

12.4. Nanopartículas poliméricas

Las nanopartículas poliméricas (NP) son partículas sólidas coloidales con un rango de tamaño que va de 1 a 600 nm. Estos coloides están constituidos por materiales macromoleculares sintéticos o naturales y pueden formar nanocápsulas o nanoesferas, en las cuales el principio activo (fármaco o productos naturales) se encuentra disuelto, atrapado, encapsulado, adsorbido o adherido (Figura 3).

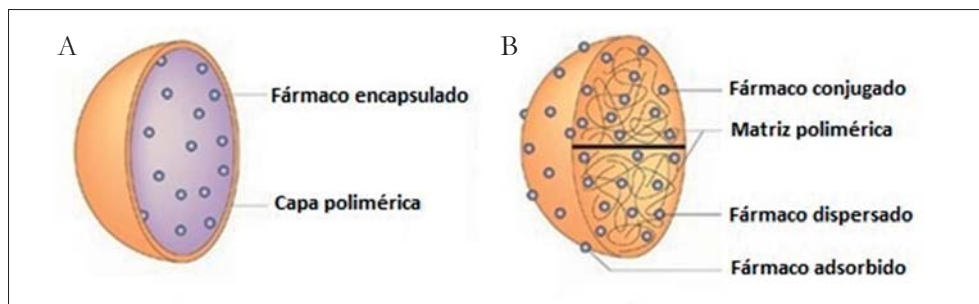


Figura 3. Estructura de los dos tipos de nanopartículas poliméricas: A. Nanocápsula y B. Nanoesfera

Debido a sus características físicoquímicas, las NP han sido consideradas uno de los sistemas más novedosos para la liberación de diversos compuestos activos, entre ellos los productos naturales. Entre las ventajas asociadas a estas características tenemos que:

- Debido a su tamaño nanométrico, comparable con los componentes en células humanas, las NP pueden ser utilizadas para facilitar la interacción con diversos sistemas biológicos (i.e. células cancerígenas, virus, bacterias, células sanguíneas y parásitos).
- Considerando su amplia área superficial, el número de moléculas de activo biológico presentes en la superficie de las NP se incrementa conforme disminuye el tamaño del sistema.
- Considerando su tamaño submicrónico, es fácil mantener a las nanopartículas en suspensión líquida, ya que el efecto de la fuerza gravitacional sobre ellas es muy pequeño. Esto permite tener sistemas más estables, impidiendo su precipitación en la formulación en que se encuentran.
- Por su pared polimérica, las nanopartículas otorgan protección a los principios activos tanto de factores ambientales (i.e. luz, humedad, temperatura) como del entorno biológico en donde se aplican (i.e. enzimas, pH).
- La morfología superficial puede jugar un rol importante en la adhesión del sistema acarreador con el sistema biológico blanco (i.e. célula, tejido), debido a que se incrementan las atracciones de Van der Waals entre ellos. Más allá de esto, la superficie de las nanopartículas puede ser modificada para aumentar o disminuir, según se desee, su interacción con el sistema biológico blanco y, así, hacer más eficiente la actividad del principio activo.

Existen diversos trabajos en los que se han desarrollado formulaciones de NP cargadas de productos naturales, incluyendo aceites esenciales, extractos crudos de plantas y compuestos aislados. Por ejemplo, con la finalidad de incrementar la actividad antimicrobiana que presenta el aceite esencial de canela contra *Phytophthora drechsleri* (fitopatógeno del pepino), Mohammadi y col. desarrollaron nanopartículas de quitosán cargadas con este aceite. La formulación presentó un tamaño de partícula en un rango de 100 a 190 nm, con porcentajes de encapsulación y de eficiencia de encapsulación de 2-17% y 3-4%, respectivamente.

En los estudios de actividad antimicrobiana contra *P. dreschleri*, las NP cargadas con el aceite a una concentración de 1.5 g/L disminuyeron significativamente la incidencia de *P. dreschleri* por un período de 7 d en pepinos inoculados con el patógeno. Además, el aceite encapsulado extendió la vida de anaquel del pepino hasta por 21 d (Mohammadi, Hashemi & Hosseini, 2015). Otras formulaciones similares con actividad antiparasitaria y antimicrobiana se han desarrollado para su aplicación en la industria de alimentos. Aceites esenciales de eucalipto, *Eucalyptus staigeriana* y *E. citriodora*, han sido encapsulados en NP a base de goma de anacardo y evaluados en su actividad antimicrobiana contra *Salmonella enteritidis* y *L. monocytogenes*. En comparación con el aceite libre de *E. staigeriana*, las NP mostraron una mayor actividad antimicrobiana debido al efecto en conjunto entre el aceite y la goma de anacardo. Por su parte, la formulación del aceite de *E. citriodora* en NP de quitosán, con una concentración de 8 mg/mL de aceite, mostró inhibir la eclosión de las larvas del nemátodo *Haemonchus contortus* en un 93%. En ambos estudios, los resultados demostraron que las formulaciones pueden ser utilizadas como aditivos en alimentos para el control de *L. monocytogenes*, *S. enteritidis* y *H. contortus* (Herculano, de Paula, de Figueiredo, Dias & Pereira, 2015; Ribeiro et al., 2014).

Las NP también representan una excelente opción para la encapsulación y liberación de compuestos aislados a partir de fuentes naturales. Terpenos aislados de *Ginkgo biloba* han sido encapsulados en NP de ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA) y de polietilenglicol (PEG) para el desarrollo de una formulación intravenosa. Los terpenos mostraron una eficiencia de encapsulación de 79% y se observó una liberación sostenida y sincronizada de los mismos, debido principalmente al largo tiempo de circulación de las nanopartículas (inducido por el polietilenglicol) y por la lenta degradación del PLGA. Dichos resultados mostraron que las NP pueden funcionar como sistemas para la liberación sostenida y sincronizada de múltiples compuestos naturales (Han, Fu, Cole, Liu & Wang, 2012). Otros ejemplos de formulaciones incluyen nanopartículas elaboradas a base de PLGA y compuestos aislados como triterpenoides, grandisina, coumarina y apigenina. Los ensayos *in vitro* mostraron que la nanoencapsulación de los compuestos incrementa la actividad citotóxica de los mismos, lo que sustenta su aplicación como posible terapia anticancerígena (Bhattacharyya et al., 2011; Das, Das, Paul, Samadder & Khuda-Bukhsh, 2014; Das, Das, Samadder, Paul & Khuda-Bukhsh, 2013; Stecanella et al., 2013). Además, Guerrero Barbosa y col. encapsularon la coenzima Q10, una quinona que posee capacidad antioxidante y ha demostrado inhibir la peroxidación de ácidos grasos, con un polímero de

tipo metilacrilato. Aunque no se realizaron ensayos *in vitro*, las formulaciones mostraron eficiencias de encapsulación entre 50 y 90%. Los autores propusieron que debido a sus características (i.e tamaño, encapsulación) estas formulaciones pueden ser utilizadas como una forma de dosificación oral del compuesto activo (Guerrero Barboza et al., 2014).

Particularmente, en años recientes, la aplicación de las NP en el área dermatológica ha adquirido una gran relevancia debido a que pueden liberar activos para que tengan un efecto local o sistémico. En este contexto, Álvarez Román y col., estandarizaron la obtención de formulaciones con carvacrol (antioxidante) en nanopartículas de poli(ϵ -caprolactona). Posteriormente caracterizaron a las formulaciones dermatocinéticamente en base a estudios *in vitro* de permeación transdérmica. Los porcentajes de encapsulación y eficiencia de encapsulación fueron de 51 y 91%, respectivamente. Los estudios dermatocinéticos mostraron que las nanopartículas penetran las capas más profundas del estrato córneo sin atravesar completamente la piel, lo que impide su llegada al torrente sanguíneo disminuyendo de manera importante los posibles efectos tóxicos y alérgicos de los compuestos encapsulados. La formulación óptima podría utilizarse como tratamiento preventivo contra el cáncer debido a su actividad antioxidante (Álvarez-Román et al., 2011; Cavazos-Rodríguez, 2011).

En otro estudio, el extracto de *Garcinia mangostana* fue incorporado en NP, las cuales posteriormente fueron formuladas en dos vehículos con diferente polaridad (agua y crema). El estudio también incluyó evaluaciones sobre la penetración en piel de cerdo del extracto libre y encapsulado en las NP. Los resultados mostraron que tanto las NP cargadas como el extracto libre incorporados en la crema penetraron más profundamente que si eran aplicados en el vehículo acuoso. Se concluyó que estas formulaciones favorecían la aplicación del extracto de *G. mangostana* en productos cosméticos (Tachaprutinun et al., 2014)

Si bien los extractos crudos obtenidos a partir de plantas representan una fuente importante de tratamientos potenciales para distintas enfermedades, está claro que su complejidad y composición diversa dificulta su aplicación directa en organismos. Aspectos de solubilidad de sus componentes y factores como la sinergia entre los componentes activos han incitado a la búsqueda de sistemas de liberación que permitan el uso de dichas fuentes naturales. Durante la última década, las NP han sido utilizadas para la aplicación de extractos con actividad anticancerígena. Por ejemplo, el extracto de raíz de *Polygala senega* y el extracto de

G. mangostana han sido encapsulados en NP, obteniendo resultados prometedores en modelos *in vitro*. La formulación elaborada con PLGA y el extracto de *P. senega* mostró un tamaño de partícula alrededor de 147 nm, el cual potenció la incorporación celular de los componentes del extracto y mejoró su biodisponibilidad en la línea celular A549 de cáncer de pulmón (Paul et al., 2010). Por otra parte, la nanoencapsulación del extracto de *G. mangostana* con etilcelulosa mostró una mayor acumulación e internalización celular en comparación con el extracto libre. Además, cuando se llevaron a cabo estudios *in vitro*, las NP mostraron una actividad anticancerígena efectiva en células HeLa (Pan-In, Wanichwecharunguang, Hanes & Kim, 2014; Tachaprutinun et al., 2014).

Por otro lado, tomando en cuenta sus propiedades antiulcerogénicas, los extractos de *G. mangostana* y *Passiflora serratodigitata* han sido incorporados en sistemas nanoparticulados. En estudios *in vitro* se evaluó su actividad contra *Helicobacter pylori*, mostrando una buena capacidad para combatir la proliferación de la bacteria gástrica y evitar el desarrollo de úlceras y de cáncer de estómago (Marc Strasser, 2014; Pan-in et al., 2014). En el área de alimentos, los extractos de *Ilex paraguariensis* (yerba mate) han sido nanoencapsulados para el enriquecimiento de sopas instantáneas con el fin de conferir propiedades antioxidantes a este tipo de productos (Deladino, Navarro & Martino, 2013).

Más allá de los ensayos biológicos tanto *in vitro* como *in vivo*, debido al gran potencial que representan las NP como sistemas acarreadores de extractos crudos, las últimas tendencias en investigación que se han realizado con las NP incluyen estudios de formulación con diseños factoriales que tienen como objetivo definir las condiciones óptimas para la elaboración de NP a gran escala (Ferreira Ribeiro, Torres Garruth Ferreira, Fernandes dos Santos, Mendes Cabral & Pereira de Sousa, 2015).

En cuanto al estudio de extractos con otras actividades, como por ejemplo pesticidas, Figueroa y col., elaboraron NP a base de Eudragit L100-55 y extractos de *Annona muricata* (guanábana) y evaluaron su actividad en poblaciones de larvas de *Aedes aegypti*, vector transmisor del dengue. Los resultados de los ensayos *in vitro* mostraron que las NP cargadas presentaron hasta un 70% de mortalidad sobre las larvas del vector a una concentración de 60 ppm y una estabilidad de hasta 12 meses. Dicha formulación mostró un gran potencial para ser aplicada como bioinsecticida (Figueroa-Espinoza, 2014).

12.5. Nanopartículas sólidas lipídicas

Las nanopartículas sólidas lipídicas (SLN) están compuestas de lípidos sólidos y emulsificantes dispersos en un medio acuoso (Figura 4). Pueden ser producidas por homogenización a alta presión y se caracterizan por tener un tamaño de partícula menor a los 500 nm. Estos sistemas también pueden obtenerse por técnicas con solventes orgánicos homogenizados a alta presión/evaporación de solvente o dilución de microemulsiones. Las SLN combinan las ventajas de los acarreadores coloidales, dejando de lado las desventajas de otros sistemas como los liposomas y las NP. Entre de las ventajas del uso de las SLN como acarreadores de principios activos encontramos:

- Posibilidad de controlar la liberación del principio activo y posibilidad de su biodireccionamiento.
- Incremento de la solubilidad de principios activos.
- Gran capacidad de carga de moléculas con actividad biológica.
- Facilidad de incorporar principios activos lipofílicos o hidrofílicos.
- No presentan biotoxicidad.
- No se necesitan, en muchos casos, de solventes orgánicos para su preparación.
- Pocos problemas al momento de producirlas a gran escala o someterlas a esterilización.

Las SLN han sido utilizadas para la incorporación de compuestos lipofílicos aislados de plantas con el objetivo de tratar enfermedades asociadas al estrés

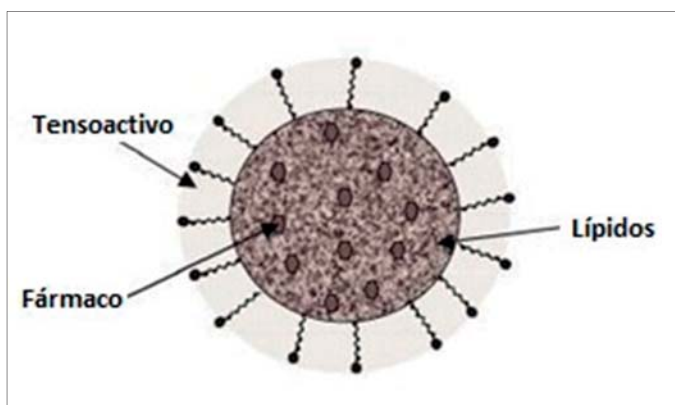


Figura 4. Estructura de una nanopartícula sólida lipídica

oxidativo. Por ejemplo, se estudió la coencapsulación de resveratrol y curcumina en SLN. La formulación mostró un incremento en la fotoestabilidad de los compuestos. Además, las SLN mostraron un perfil de liberación controlada de ambos polifenoles (Coradini et al., 2014). En otro estudio, con el objetivo de incrementar su solubilidad en agua y evitar su volatilización, el eugenol fue incorporado en SLN por un proceso de homogenización, seguido de una etapa de secado por aspersión o por liofilización. La formulación de SLN compuesta de Campitrol[®], Poloxamer 188 y maltodextrina DE10 presentó una buena retención del eugenol. Además, pudo constatar que la etapa de secado es determinante en la retención de compuestos como el eugenol, ya que la liofilización favoreció su interacción en comparación con el secado por aspersión. Los autores propusieron que este tipo de formulaciones de SLN en forma de polvos pueden facilitar la dosificación de eugenol en productos nutracéuticos durante su preparación (Cortés-Rojas, Souza & Oliveira, 2014).

12.6. β -Ciclodextrinas

El tipo más común de ciclodextrina es el compuesto conocido como β -ciclodextrina (β -CD), el cual consiste en 7 unidades de glucosa unidas por enlaces α -(1,4) que forman una estructura con una cavidad central. A pesar de que la cavidad es básicamente lipofílica y su superficie exterior es hidrofílica, algunas moléculas de agua pueden incorporarse a la cavidad de las ciclodextrinas hidratadas (Figura 5). La cavidad lipofílica de las moléculas de β -CD provee de un microentorno apropiado para ciertas moléculas que pueden internarse y formar complejos de inclusión.

La principal fuerza impulsora para la formación de complejos β -CD-activos (encapsulación) es el desplazamiento de las moléculas de agua por parte de las moléculas hidrofóbicas dentro de la cavidad, debido a la afinidad del entorno. Al aumentar la cantidad de moléculas hidrofóbicas en la cavidad, la asociación apolar-apolar alcanza un nivel óptimo en el que la tensión del anillo de la CD resulta en un estado de energía menor y, por lo tanto, es más estable. Esta propiedad de la β -CD es, precisamente, la que ha sido ampliamente utilizada en la industria de alimentos, farmacéutica y cosmética, para la encapsulación de compuestos como antioxidantes, vitaminas, aceites esenciales y colorantes. En general, se ha buscado incrementar la solubilidad, mejorar su estabilidad y optimizar la liberación de distintos compuestos.

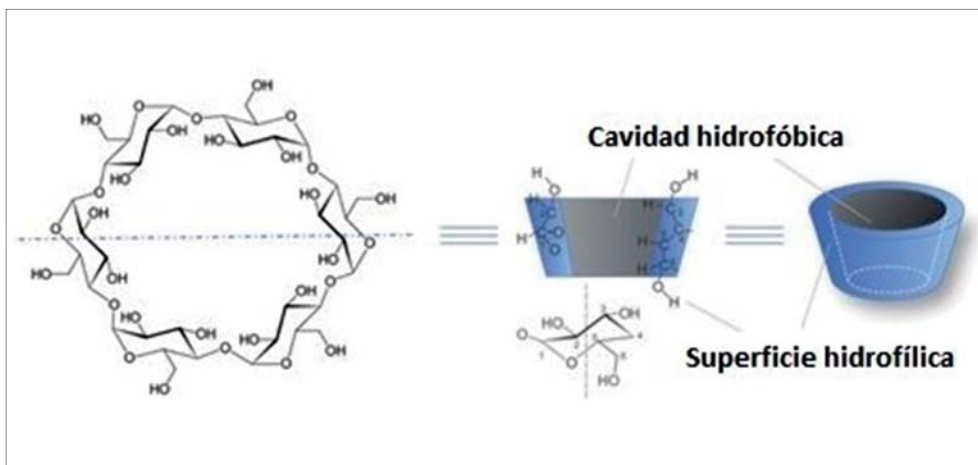


Figura 5. Estructura de la β -ciclodextrina

En años recientes, la industria de alimentos ha mostrado gran interés en el desarrollo de formulaciones a base de β -CD y compuestos aislados de extractos naturales. Al ser incorporados en sistemas como las β -CD, compuestos como el d-limoneno, timol y *trans*-anetol incrementaron diversas propiedades de los alimentos tales como, la calidad de la mezcla de los alimentos, la actividad antimicrobiana, el sabor, la solubilidad y la estabilidad (Fang, Comino & Bhandari, 2013; Kfoury, Auezova, Greige-Gerges, Ruellan & Fourmentin, 2014; Tao, Hill, Peng & Gomes, 2014).

Aceites esenciales también han sido incorporados en β -CD. Por ejemplo, los aceites esenciales de alba y estragón, los cuales son ricos en estragol, se encapsularon en diversos tipos de CD (α , β y metilada al azar). Los resultados mostraron que este tipo de sistemas proporcionan una liberación controlada del estragol, así como un incremento en la actividad de captación del radical DPPH y la fotoestabilidad del compuesto incorporado en las CD. Estas formulaciones pueden ser utilizadas en aromaterapia, cosmética y alimentos (Kfoury, Auezova, Ruellan, Greige-Gerges & Fourmentin, 2015). Por otra parte, aceites esenciales de canela, ricos en cinamaldehído y timol, han sido incorporados en estos sistemas y se ha comprobado que pueden mejorar la estabilidad de ambos compuestos en condiciones de almacenamiento menores a 84% de humedad relativa y una temperatura de 25 °C (Ponce-Cevallos, Buera & Elizalde, 2010).

12.7. Otros Sistemas de Liberación Nanoparticulados

12.7.1. Nanoemulsiones

Estos sistemas son dispersiones líquidas termodinámicamente estables compuestas de aceite, agua y surfactante, con un tamaño de glóbulo entre 20 y 200 nm. Las nanoemulsiones son preparadas para incrementar la solubilidad de activos farmacéuticos en sistemas acuosos y para proporcionar una liberación controlada del activo en su sitio de aplicación. En este contexto, compuestos como la azadiractina (extraída de *Azadirachta indica*, neem) o aceites esenciales obtenidos de *Cuminum cyminum* han sido incorporados en nanoemulsiones, proporcionando la liberación controlada de los compuestos activos e incrementando la actividad biológica de los mismos (i.e. antioxidante y hepatoprotectora) (Jerobin, Sureshkumar, Anjali, Mukherjee & Chandrasekaran, 2012; Mostafa et al., 2015).

12.7.2. Micro/nanocomplejos

Con el objetivo de disminuir la susceptibilidad de los productos naturales e incrementar su estabilidad durante el proceso de almacenamiento, la encapsulación en micro/nanocomplejos ha sido aplicada recientemente en la industria de alimentos y nutracéuticos. Dependiendo de la naturaleza del polímero que se utilice, estos sistemas pueden ofrecer mayor adherencia a la superficie de la mucosa intestinal, además de protección y liberación controlada de sustancias naturales activas. Por ejemplo, al ser evaluados *in vitro*, complejos elaborados a base de quitosán y α -tocoferol mostraron una liberación controlada y mayor protección de este compuesto activo en fluido intestinal simulado (Luo, Zhang, Whent, Yu & Wang, 2011). En otro estudio, complejos de alginato o quitosán con aceite esencial de eucalipto presentaron eficiencia de encapsulación entre 90 y 92%, además de una liberación sostenida del aceite (Chang & Dobashi, 2003; Ribeiro et al., 2013).

12.7.3. Nanogeles

Los nanogeles son partículas nanométricas formadas por redes de polímero que se encuentran entrecruzadas, física o químicamente, y que tienden a hincharse cuando interactúan con un buen solvente. Los nanogeles son considerados sis-

temas con mucho potencial debido a su alta capacidad de carga del activo, alta estabilidad y sus propiedades de liberación. Nanogeles elaborados a partir de quitosán y aceite esencial de *Mentha piperita*, rico en ácido cinámico, han sido desarrollados para el control de *Aspergillus flavus*, mostrando que la incorporación del producto natural en el sistema mantiene e incrementa la actividad antifúngica del mismo (Beyki et al., 2014).

12.7.4. Niosomas

Los niosomas son autoensamblajes vesiculares de surfactantes no iónicos, los cuales son parecidos a los liposomas en su arquitectura y pueden ser utilizados como una alternativa efectiva a los sistemas liposomales debido a su bajo costo, gran estabilidad, facilidad de almacenaje y factibilidad de producción a escala industrial. Un ejemplo de este tipo de sistemas de liberación se desarrolló usando antioxidantes, como el ácido gálico (AG), curcumina (CU), ácido ascórbico (AA) y quercetina (QC), y Tween 60. Las formulaciones mostraron que la coencapsulación de AG/CU y AA/QC influyen en las características químicas y eficiencias de encapsulación de los activos con respecto a las formulaciones simples de cada uno de los antioxidantes. Además, aparentemente, los antioxidantes encapsulados presentaron un incremento en su capacidad para reducir radicales libres, lo cual podría haberse debido a un efecto sinérgico (Tavano, Muzzalupo, Picci & De Cindio, 2014).

12.8. Conclusión

En los últimos años se han desarrollado diversas formulaciones a base de sistemas particulados, por ejemplo, micropartículas, liposomas, nanopartículas poliméricas, nanopartículas sólidas lipídicas, β -ciclodextrinas, entre otros, y productos naturales como aceites esenciales, extractos de distintas polaridades y compuestos aislados. Dichas formulaciones presentan características fisicoquímicas especiales, las cuales permiten la aplicación de los productos naturales de una manera más eficiente y segura en comparación con las formas convencionales de administración. Los ensayos *in vitro* e *in vivo* obtenidos en numerosas investigaciones sustentan el gran potencial que tienen los sistemas particulados para ser utilizados en la formulación de componentes activos de origen natural. Estas formulaciones podrían ser empleadas en diversas aplicaciones industriales incluyendo la alimentaria, la farmacéutica, la agroquímica y la cosmética.

Referencias

- Álvarez-Román, R., Cavazos-Rodriguez, M.R., Chávez-Montes, A., Castro-Rios, R., Waksman de Torres, N., Salazar-Cavazos, M.L. et al. (2011). Formulacion y caracterizacion de nanocapsulas con antioxidante natural para su aplicación cutánea. *Química Hoy Chemistry Sciences*, 1(4), 29-35.
- Beirão da Costa, S., Duarte, C., Bourbon, A.I., Pinheiro, A.C., Serra, A.T., Moldão Martins, M. et al. (2012). Effect of the matrix system in the delivery and *in vitro* bioactivity of microencapsulated Oregano essential oil. *Journal of Food Engineering*, 110(2), 190-199. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.05.043>
- Beyki, M., Zhavah, S., Khalili, S.T., Rahmani-Cherati, T., Abollahi, A., Bayat, M. et al. (2014). Encapsulation of Mentha piperita essential oils in chitosan–cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. *Industrial Crops and Products*, 54, 310-319. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.01.033>
- Bhattacharyya, S.S., Paul, S., De, A., Das, D., Samadder, A., Boujedaini, N. et al. (2011). Poly (lactide-co-glycolide) acid nanoencapsulation of a synthetic coumarin: Cytotoxicity and bio-distribution in mice, in cancer cell line and interaction with calf thymus DNA as target. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 253(3), 270-281. <http://doi.org/10.1016/j.taap.2011.04.010>
- Buri, P., Puisieux, F., Doelker, E., & Benoit, J.P. (1985). *Formes pharmaceutiques nouvelles: aspects technologique, biopharmaceutique et médical*. Paris, Fr: Lavoisier Tec & Doc.
- Çam, M., İcyer, N.C., & Erdoğan, F. (2014). Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. *LWT - Food Science and Technology*, 55(1), 117-123. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.011>
- Castangia, I., Caddeo, C., Manca, M.L., Casu, L., Latorre, A.C., Díez-Sales, O. et al. (2015). Delivery of liquorice extract by liposomes and hyalurosomes to protect the skin against oxidative stress injuries. *Carbohydrate Polymers*, 134, 657-663. <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.08.037>

- Cavazos-Rodríguez M.R. (2011). *Encapsulación de moléculas antioxidantes en nanopartículas poliméricas para su aplicación dermatológica*. Tesis Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, N.L. México.
- Chang, C.P., & Dobashi, T. (2003). Preparation of alginate complex capsules containing eucalyptus essential oil and its controlled release. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 32(3), 257-262. <http://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2003.07.002>
- Coradini, K., Lima, F.O., Oliveira, C.M., Chaves, P.S., Athayde, M.L., Carvalho, L.M., & Beck, R.C.R. (2014). Co-encapsulation of resveratrol and curcumin in lipid-core nanocapsules improves their *in vitro* antioxidant effects. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 88(1), 178-185. <http://doi.org/10.1016/j.ejpb.2014.04.009>
- Cortés-Rojas, D.F., Souza, C.R.F., & Oliveira, W.P. (2014). Encapsulation of eugenol rich clove extract in solid lipid carriers. *Journal of Food Engineering*, 127, 34-42. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.11.027>
- Das, J., Das, S., Paul, A., Samadder, A., & Khuda-Bukhsh, A.R. (2014). Strong Anticancer Potential of Nano-triterpenoid from *Phytolacca decandra* against A549 Adenocarcinoma via a Ca²⁺-dependent Mitochondrial Apoptotic Pathway. *JAMS Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 7(3), 140-150. <http://doi.org/10.1016/j.jams.2013.07.009>
- Das, S., Das, J., Samadder, A., Paul, A., & Khuda-Bukhsh, A.R. (2013). Efficacy of PLGA-loaded apigenin nanoparticles in Benzo[a]pyrene and ultraviolet-B induced skin cancer of mice: Mitochondria mediated apoptotic signalling cascades. *Food and Chemical Toxicology*, 62, 670-680. <http://doi.org/10.1016/j.fct.2013.09.037>
- Deladino, L., Navarro, A.S., & Martino, M.N. (2013). Carrier systems for yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) to enrich instant soups. Release mechanisms under different pH conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 53(1), 163-169. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.01.030>
- Fang, Z., Comino, P.R., & Bhandari, B. (2013). Effect of encapsulation of d-limonene on the moisture adsorption property of β -cyclodextrin. *LWT - Food Science and Technology*, 51(1), 164-169. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.09.016>

- Ferreira-Ribeiro, A., Torres-Garruth-Ferreira, C., Fernandes dos Santos, J., Mendes-Cabral, L., & Pereira de Sousa, V. (2015). Design of experiments for the development of poly(d,l-lactide-co-glycolide) nanoparticles loaded with *Uncaria tomentosa*. *Journal of Nanoparticle Research*, 17(2). <http://doi.org/10.1007/s11051-015-2883-y>
- Figuroa-Espinoza, A. (2014). *Incorporación de extractos de semillas de Anona muricata L (Annonaceae) en nanopartículas poliméricas para su uso en el control de Aedes aegypti L (Diptera: Culicidae)*. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Guadarrama-Lezama, A.Y., Dorantes-Alvarez, L., Jaramillo-Flores, M.E., Pérez-Alonso, C., Niranjani, K., Gutiérrez-López, G.F. et al. (2012). Preparation and characterization of non-aqueous extracts from chilli (*Capsicum annuum* L.) and their microencapsulates obtained by spray-drying. *Journal of Food Engineering*, 112(1-2), 29-37. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.03.032>
- Guerrero-Barboza, A., Álvarez-Román, R., Perales-Flores, J.D., Barajas-Aguilar, N.C., Ramirez-González, E., & Galindo-Rodríguez, S.A. (2014). Nanopartículas poliméricas no biodegradables cargadas con CoQ10 para su potencial administración oral. *Química Hoy Chemistry Sciences*, 4(3), 1-5.
- Han, L., Fu, Y., Cole, A. J., Liu, J., & Wang, J. (2012). Co-encapsulation and sustained-release of four components in ginkgo terpenes from injectable PELGE nanoparticles. *Fitoterapia*, 83(4), 721-731. <http://doi.org/10.1016/j.fitote.2012.02.014>
- Herculano, E.D., de Paula, H.C.B., de Figueiredo, E.A.T., Dias, F.G.B., & Pereira, V.D.A. (2015). Physicochemical and antimicrobial properties of nanoencapsulated *Eucalyptus staigeriana* essential oil. *LWT - Food Science and Technology*, 61, 484-491. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.001>
- Jerobin, J., Sureshkumar, R.S., Anjali, C.H., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2012). Biodegradable polymer based encapsulation of neem oil nanoemulsion for controlled release of Aza-A. *Carbohydrate Polymers*, 90(4), 1750-1756. <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.07.064>
- Joye, I.J., & McClements, D.J. (2014). Biopolymer-based nanoparticles and micro-particles: Fabrication, characterization, and application. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 19(5), 417-427. <http://doi.org/10.1016/j.cocis.2014.07.002>

- Kfoury, M., Auezova, L., Greige-Gerges, H., Ruellan, S., & Fourmentin, S. (2014). Cyclodextrin, an efficient tool for trans-anethole encapsulation: Chromatographic, spectroscopic, thermal and structural studies. *Food Chemistry*, 164, 454-461. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.052>
- Kfoury, M., Auezova, L., Ruellan, S., Greige-Gerges, H., & Fourmentin, S. (2015). Complexation of estragole as pure compound and as main component of basil and tarragon essential oils with cyclodextrins. *Carbohydrate Polymers*, 118, 156-164. <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.073>
- Leimann, F.V., Gonçalves, O.H., Machado, R.A.F., & Bolzan, A. (2009). Antimicrobial activity of microencapsulated lemongrass essential oil and the effect of experimental parameters on microcapsules size and morphology. *Materials Science and Engineering C*, 29(2), 430-436. <http://doi.org/10.1016/j.msec.2008.08.025>
- Liolios, C.C., Gortzi, O., Lalas, S., Tsaknis, J., & Chinou, I. (2009). Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of *Origanum dictamnus* L. and *in vitro* antimicrobial activity. *Food Chemistry*, 112(1), 77-83. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.060>
- Luo, Y., Zhang, B., Whent, M., Yu, L.L., & Wang, Q. (2011). Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of α -tocopherol, and its *in vitro* controlled release study. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 85(2), 145-152. <http://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.02.020>
- Marc-Strasser, P.N. (2014). Antiulcerogenic Potential Activity of Free and Nanoencapsulated *Passiflora serratodigitata* L. Extracts. *BioMed research international*, 2014(1), 434067. <http://doi.org/10.1155/2014/434067>
- Mohammadi, A., Hashemi, M., & Hosseini, S.M. (2015). Chitosan nanoparticles loaded with *Cinnamomum zeylanicum* essential oil enhance the shelf life of cucumber during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 110, 203-213. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.08.019>
- Mostafa, D.M., Kassem, A.A., Asfour, M.H., Al Okbi, S.Y., Mohamed, D.A., & Hamed, T.E.S. (2015). Transdermal cumin essential oil nanoemulsions with potent antioxidant and hepatoprotective activities: In-vitro and in-vivo eva-

- uation. *Journal of Molecular Liquids*, 212, 6-15. <http://doi.org/10.1016/j.molliq.2015.08.047>
- Pan-In, P., Tachapruetinun, A., Chaichanawongsaroj, N., Banlunara, W., Suk-samrarn, S., & Wanichwecharungruang, S. (2014). Combating Helicobacter pylori infections with mucoadhesive nanoparticles loaded with *Garcinia mangostana* extract. *Nanomedicine (London, England)*, 9(3), 457-468. <http://doi.org/10.2217/nnm.13.30>
- Pan-In, P., Wanichwecharungruang, S., Hanes, J., & Kim, A.J. (2014). Cellular trafficking and anticancer activity of *Garcinia mangostana* extract-encapsulated polymeric nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, 9(1), 3677-3686. <http://doi.org/10.2147/IJN.S66511>
- Paul, S., Bhattacharyya, S.S., Boujedaini, N., Khuda-Bukhsh, A.R., Paul, S., Bhattacharyya, S.S. et al. (2010). Anticancer Potentials of Root Extract of *Polygala senega* and Its PLGA Nanoparticles-Encapsulated Form, Anticancer Potentials of Root Extract of *Polygala senega* and Its PLGA Nanoparticles-Encapsulated Form. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, e517204. <http://doi.org/10.1155/2011/517204>, [10.1155/2011/517204](http://doi.org/10.1155/2011/517204)
- Peng, C., Zhao, S.-Q., Zhang, J., Huang, G.-Y., Chen, L.-Y., & Zhao, F.-Y. (2014). Chemical composition, antimicrobial property and microencapsulation of Mustard (*Sinapis alba*) seed essential oil by complex coacervation. *Food Chemistry*, 165, 560-568. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.126>
- Ponce Cevallos, P.A., Buera, M.P., & Elizalde, B.E. (2010). Encapsulation of cinnamon and thyme essential oils components (cinnamaldehyde and thymol) in β -cyclodextrin: Effect of interactions with water on complex stability. *Journal of Food Engineering*, 99(1), 70-75. <http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.01.039>
- Rassu, G., Nieddu, M., Bosì, P., Trevisi, P., Colombo, M., Priori, D. et al. (2014). Encapsulation and modified-release of thymol from oral microparticles as adjuvant or substitute to current medications. *Phytomedicine*, 21(12), 1627-1632. <http://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.07.017>

- Ribeiro, A., Ruphuy, G., Lopes, J.C., Dias, M.M., Barros, L., Barreiro, F. et al. (2015). Spray-drying microencapsulation of synergistic antioxidant mushroom extracts and their use as functional food ingredients. *Food Chemistry*, 188, 612-618. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.061>
- Ribeiro, J.C., Ribeiro, W.L.C., Camurca-Vasconcelos, A.L.F., Macedo, I.T.F., Santos, J.M.L., Paula, H. C. B. et al. (2014). Efficacy of free and nanoencapsulated *Eucalyptus citriodora* essential oils on sheep gastrointestinal nematodes and toxicity for mice. *Veterinary Parasitology*, 204(3-4), 243-248. <http://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.05.026>
- Ribeiro, W.L.C., Macedo, I.T.F., dos Santos, J.M.L., de Oliveira, E.F., Camurça-Vasconcelos, A.L.F., de Paula, H.C.B. et al. (2013). Activity of chitosan-encapsulated *Eucalyptus staigeriana* essential oil on *Haemonchus contortus*. *Experimental Parasitology*, 135(1), 24-29. <http://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.05.014>
- Robert, P., Torres, V., García, P., Vergara, C., & Sáenz, C. (2015). The encapsulation of purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) pulp by using polysaccharide-proteins as encapsulating agents. *LWT - Food Science and Technology*, 60(2, Part 1), 1039-1045. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.10.038>
- Sebaaly, C., Jraij, A., Fessi, H., Charcosset, C., & Greige-Gerges, H. (2015). Preparation and characterization of clove essential oil-loaded liposomes. *Food Chemistry*, 178, 52-62. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.067>
- Stecanella, L.A., Taveira, S.F., Marreto, R.N., Valadares, M.C., Vieira, M. de S., Kato, M.J. et al. (2013). Development and characterization of PLGA nanocapsules of grandisin isolated from *Virola surinamensis*: *In vitro* release and cytotoxicity studies. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 23(1), 153-159. <http://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000128>
- Tachaprutinun, A., Meinke, M.C., Richter, H., Pan-In, P., Wanichwecharunguang, S., Knorr, F. et al. (2014). Comparison of the skin penetration of *Garcinia mangostana* extract in particulate and non-particulate form. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 86(2), 307-313. <http://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.12.001>

- Tan, C., Zhang, Y., Abbas, S., Feng, B., Zhang, X., & Xia, S. (2014). Modulation of the carotenoid bioaccessibility through liposomal encapsulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 123, 692-700. <http://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.10.011>
- Tao, F., Hill, L.E., Peng, Y., & Gomes, C.L. (2014). Synthesis and characterization of β -cyclodextrin inclusion complexes of thymol and thyme oil for antimicrobial delivery applications. *LWT - Food Science and Technology*, 59(1), 247-255. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.037>
- Tavano, L., Muzzalupo, R., Picci, N., & De Cindio, B. (2014). Co-encapsulation of antioxidants into niosomal carriers: Gastrointestinal release studies for nutraceutical applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 114, 82-88. <http://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.09.058>
- Tiwari, G., Tiwari, R., Sriwastawa, B., Bhati, L., Pandey, S., Pandey, P. et al. (2012). Drug delivery systems: An updated review. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 2(1), 2-11. <http://doi.org/10.4103/2230-973X.96920>
- Turasan, H., Sahin, S., & Sumnu, G. (2015). Encapsulation of rosemary essential oil. *LWT - Food Science and Technology*, 64(1), 112-119. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.036>
- Vergara, C., Saavedra, J., Sáenz, C., García, P., & Robert, P. (2014). Microencapsulation of pulp and ultrafiltered cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) extracts and betanin stability during storage. *Food Chemistry*, 157, 246-251. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.037>