



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

**“NUEVAS TENDENCIAS EN DERMOFARMACIA:
LOS TRANSFEROSOMAS”**

Autor: Gonzalo Robles Criado

D.N.I.: 53659672M

Tutor: Paloma Ballesteros Papantonakis

Convocatoria: Junio 2019

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	2
2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	2
A. Estructura y caracterización del transferosoma	2
B. Invención y desarrollo hasta comercialización.....	4
C. Anatomía y características de la piel.....	5
D. Mecanismo de penetración	6
3. OBJETIVOS	8
4. METODOLOGÍA	8
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	8
A. Métodos de fabricación	8
B. Presencia en la industria farmacéutica	11
C. Presencia en la industria cosmética	15
D. Retos a superar y futuro próximo.....	16
6. CONCLUSIONES	17
7. BIBLIOGRAFÍA.....	17

1. RESUMEN

Los liposomas, bicapas lipídicas que encierran al menos un núcleo hidrofílico, fueron propuestos por primera vez como vehículos para el transporte de sustancias activas a través de la piel en la década de los 80 del siglo pasado. Pronto se vio que su utilización estaba restringida a las primeras capas del estrato córneo y en los 90 el interés por estas moléculas llevó a la invención de los transferosomas (1), naciendo así la segunda generación de transportadores vesiculares.

Los transferosomas derivan de los liposomas, teniendo por tanto una estructura muy similar, que se caracterizan por las ventajas que aportan sobre estos, siendo la más destacada, su mayor flexibilidad (entre 5-8 veces más) (2), lo que le permite el paso a través de la piel de mamíferos con facilidad, transportando en su interior grandes moléculas.

Esta mayor flexibilidad permite a los transferosomas pasar por poros mucho más pequeños que ellos (<300nm), permitiendo una mayor penetrabilidad en la piel, siendo capaces de llegar incluso, en determinadas formulaciones, al torrente sanguíneo como es el caso de los parches 'Ketoprofen transdermal', medicamento autorizado en algunos países como Suiza para el tratamiento de la osteoartritis moderada.

Las formulaciones que utilizan esta tecnología están en auge, aunque aún no son una fracción representativa de las opciones terapéuticas, ya que muchas están aún en desarrollo debido a que no se consiguieron optimizar los procesos de fabricación hasta entrado el siglo XXI y a pesar de que ya se conocen los transferosomas desde hace 30 años, elaborarlos a escala industrial de una forma económicamente viable es un reto aún en investigación. Por otro lado no hay que ignorar los escollos burocráticos que se van encontrando los laboratorios que buscan explotar esta tecnología, ya que al ser una rama de investigación nueva, que requiere la utilización de excipientes innovadores(3), se encuentran muchas reticencias por parte de las agencias regulatorias que exigen altos niveles de seguridad para los excipientes usados y en caso de querer introducir otros nuevos en el mercado, se tienen que aportar extensos informes de seguridad y toxicidad, lo cual limita mucho la progresión de la investigación.

Es muy probable que el futuro vaya de la mano de la administración transdérmica de los transferosomas puesto que, aunque es un campo aún por explorar, parece esconder muchas soluciones para problemas de hoy en día, tanto desde un punto de vista clínico como dermofarmacéutico.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

A. Estructura y caracterización del transferosoma

Los transferosomas son vehículos vesiculares patentados por primera vez por la empresa alemana IDEA AG, cuyo nombre proviene de la palabra latina 'transferre', que quiere decir transportar o transferir, y de la palabra griega 'soma', que quiere decir cuerpo.

Estos sistemas transportadores de moléculas activas constan de al menos un compartimento acuoso rodeado de una bicapa lipídica. Esta membrana se caracteriza por una elevada flexibilidad gracias a la presencia de tensioactivos o surfactantes que reducen la tensión superficial con el medio y aportan estabilidad a la formulación,

dándoles la capacidad de penetrar por espacios de 5 a 10 veces menores que su propio tamaño inicial.

Estas características son las que les otorgan diversas ventajas frente a otros nanotransportadores similares, como son los etosomas, los niosomas o los mismos liposomas, siendo los transferosomas mucho menos irritantes y con mayor eficacia de encapsulación que los etosomas debido a que no contienen alcohol (4), teniendo una mayor estabilidad física que los niosomas ya que su bicapa no es mayoritariamente surfactante (5) y siendo más penetrantes y estables físicamente que los liposomas gracias a su elevada elasticidad. (6)

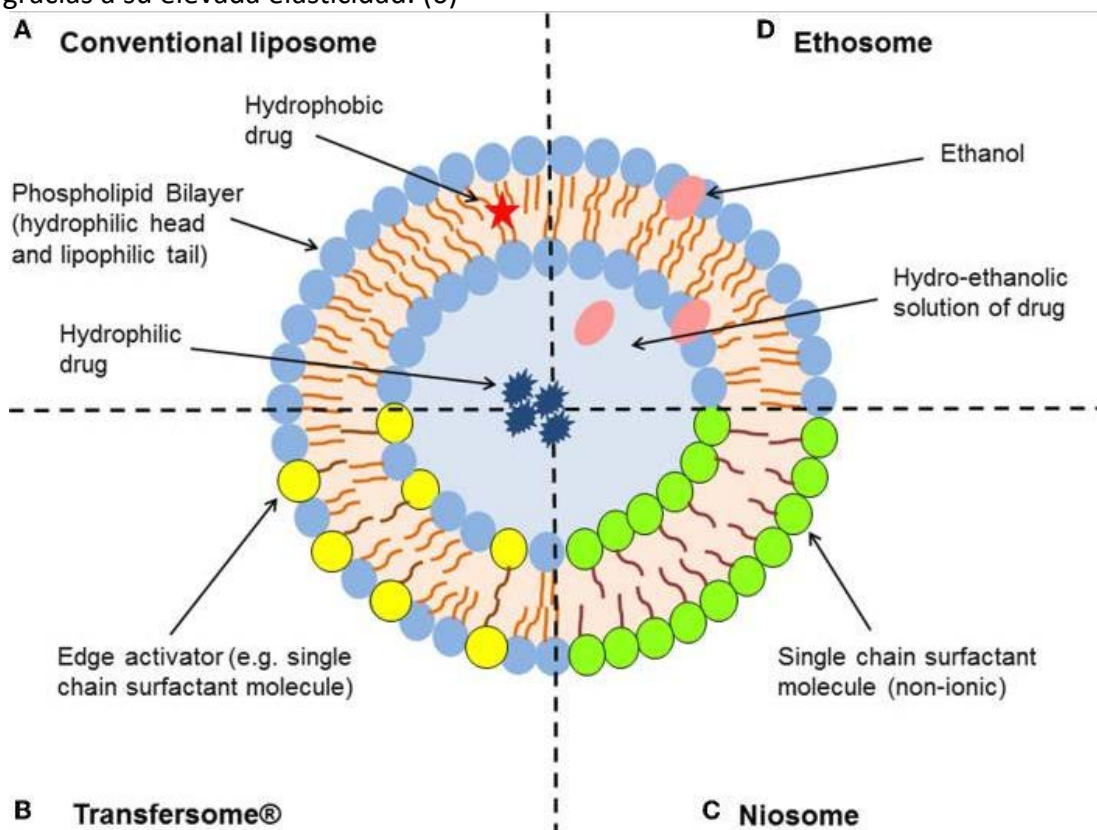


Figura 1- Comparación de la estructura entre nanopartículas de base lipídica (7)
 (A) Liposoma (B) Transferosoma (C) Niosoma (D) Etosoma

A pesar de estas ventajas, siguen lejos de ser perfectos ya que aún se deben solucionar problemas como su susceptibilidad a la degradación oxidativa y su limitada similitud con las membranas naturales de las células epiteliales, debido a los tensioactivos utilizados(8), siendo la mayoría de síntesis como los ésteres de sorbitano (Span) y polisorbatos (Tween). (7)

La formulación de estos sistemas es relativamente sencilla, con un número bajo de componentes, aunque una pequeña variación en la proporción de éstos puede llevar a grandes cambios. Todos los transferosomas se basan en dos componentes principales que son imprescindibles: fosfolípidos y un tensioactivo o "Edge activator". El primero es el componente principal de la bicapa lipídica, con un marcado carácter anfipático que le permite transportar tanto principios activos lipófilos como hidrófilos, además de ser la causa de la entrada a través de la piel siguiendo el gradiente osmótico de esta como más tarde se explica. El segundo es el responsable de aportar elasticidad y flexibilidad a la vesícula, vital para que pueda atravesar las distintas capas de la piel.

El resto de los componentes varía dependiendo del método de fabricación, aunque principalmente podemos encontrar tres grandes grupos. El primero y más utilizado es el etanol, o metanol en su defecto, que actúa como solvente para disolver los fosfolípidos y el surfactante. Después encontramos sistemas “buffer” o tampones que actúan como agentes rehidratantes y que serán el medio acuoso que se encuentra encerrado por la vesícula y que por tanto disolverán al principio activo hidrófilo. Por último, podemos encontrar en la formulación una variedad de colorantes que ayuden a su caracterización mediante microscopía confocal, siendo estos opcionales, usados sobre todo en el desarrollo de las formulaciones y evitados en la industria ya que aumentan el coste final del producto.

COMPONENTE	EJEMPLOS MÁS UTILIZADOS
FOSFOLÍPIDO	Fosfatidilcolina de soja Fosfatidilcolina de huevo Dipalmitoilfosfatidilcolina Distearilfosfaticilcolina
SURFACTANTE	Colato sódico Deoxicolato sódico Tween 80 (u otros) Span 80 (u otros)
SOLVENTE	Etanol Metanol Cloroformo
TAMPÓN (“BUFFER”)	Tampón fosfato salino (pH 6.5) 7% v/v etanol Tris(hidroximetil)aminometano (Tris)
COLORANTE	Rojo nilo Rodamina-123 Rodamina-DHPE Fluoresceína-DHPE

Tabla 1- Componentes más habituales en la formulación de Transferosomas® (9)

B. Invención y desarrollo hasta comercialización

El concepto de transferosoma fue introducido por primera vez en 1992, por Cevc y Blume, siendo éstos una segunda generación de transportadores vesiculares caracterizados por una mayor flexibilidad. En 1994 fue patentado por su inventor G. Cevc y la patente fue solicitada en 2003 por la empresa IDEA AG a la que finalmente fue adjudicada en 2008. (10) Su desarrollo se realizó durante los primeros años del siglo XXI, lo que derivó en su comercialización junto con ketoprofeno en un mismo producto bajo la denominación comercial ‘Ketoprofen transdermal’ en 2007, usado para el tratamiento del dolor articular de leve a moderado.

Desde entonces, se han desarrollado formulaciones que transportan moléculas pequeñas como AINES o glucocorticoides, hasta macromoléculas como insulina (Transfersulin®)(11) o IF- α para inmunoterapias.

Habiendo ya confirmado su utilidad como alternativa terapéutica en el tratamiento de diversas patologías, el desarrollo actual de esta tecnología está enfocado hacia la industria cosmética, con expectativas de que revolucione la lucha contra el

envejecimiento prematuro de la piel y la aparición de arrugas, gracias a su capacidad de transportar moléculas activas a las capas más profundas de la piel. Estudios como el realizado por Saraf PS., Jeswani G., Kaur D. y Saraf S. (2011) han demostrado que la utilización de transferosomas en formulaciones cosméticas, en este caso con extractos de cúrcuma como principios activos, es positiva y segura. (12)

C. Anatomía y características de la piel

La piel constituye nuestra primera y más importante barrera contra las agresiones del entorno, siendo tanto una barrera física como química, que nos protege contra microorganismos, agentes físicos y tóxicos que intentan penetrar hasta el torrente circulatorio. A pesar de esto no es una barrera total, ya que además de tener función protectora, la piel actúa como agente termorregulador y participa en el control del balance hídrico. (13)

Debido a esto, la tarea de introducir una molécula activa en las capas más profundas de la piel o de hacerla llegar a la circulación sistémica se antoja una tarea complicada. Es aquí donde cobra sentido la nanotecnología y donde brillan con especial fuerza los transferosomas.

La piel se puede dividir a grandes rasgos en dos capas, siendo la más externa la epidermis, que se asienta sobre la dermis. Bajo esta última, encontramos la hipodermis o tejido subcutáneo, que a pesar de no ser parte de la piel está íntimamente ligado, habiendo incluso autores que llegan a considerarlo parte de la piel, aunque no sea del todo correcto. La hipodermis está altamente vascularizada, con grandes vasos que conectan directamente con la circulación sistémica. Estos en ocasiones se extienden hasta la dermis, aunque lo normal es encontrar una amplia red de capilares más pequeños. Cabe destacar que la dermis es la responsable de la aparición de arrugas, por lo que, si queremos luchar contra ellas, deberá ser aquí donde actúen las formulaciones pertinentes.

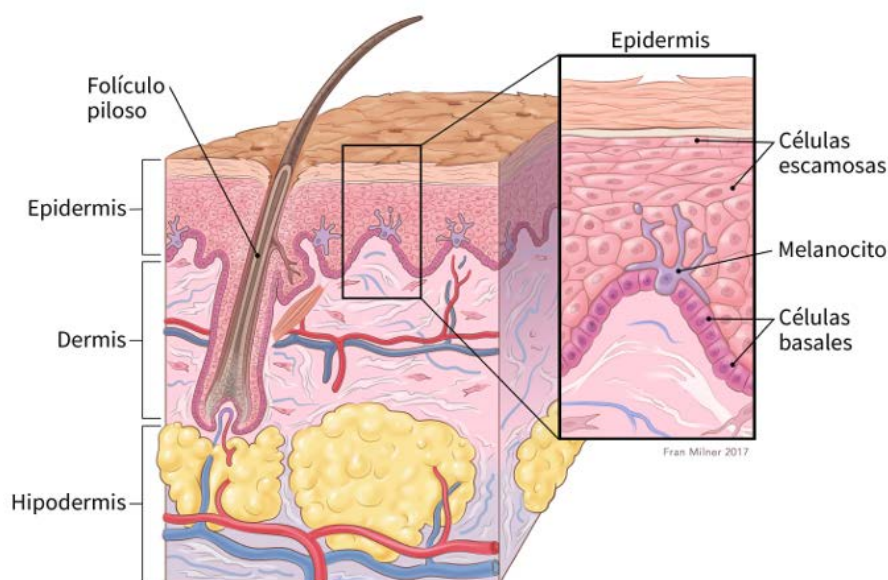


Figura 2- Las capas de la piel: Epidermis y dermis. (14)

La epidermis, al ser la más externa, es también la que más se opone a la entrada de cualquier producto. Se compone de varias capas de queratinocitos estrechamente ligados entre sí, que se van reemplazando desde dentro hacia fuera, desde el estrato basal, hasta el estrato corneo, en el cual ya solo quedan células muertas que se irán

desprendiendo. (15) Aún hoy, para conseguir atravesar esta barrera se siguen utilizando métodos químicos muy agresivos e incluso métodos físicos como microagujas con el evidente daño a la piel, las molestias para el cliente y el evidente riesgo microbiológico. El desarrollo por tanto de la nanotecnología conlleva claras ventajas en seguridad y comodidad, lo que le da inmediatamente una ventaja competitiva en el mercado.

D. Mecanismo de penetración

Existen dos vías de entrada a través de la piel, la vía intracelular y la vía intercelular. La primera está altamente desfavorecida ya que las moléculas deben atravesar los queratinocitos varias veces, por lo que no es sencilla. La segunda vía, la intercelular, que es la que utilizan los transferosomas, así como la mayoría de sus más directos competidores nanotecnológicos, se ve algo más favorecida y consiste en atravesar los diferentes estratos de queratinocitos por sus microporos intercelulares, los cuales son muy pequeños debido a la alta compactación que estos tienen.

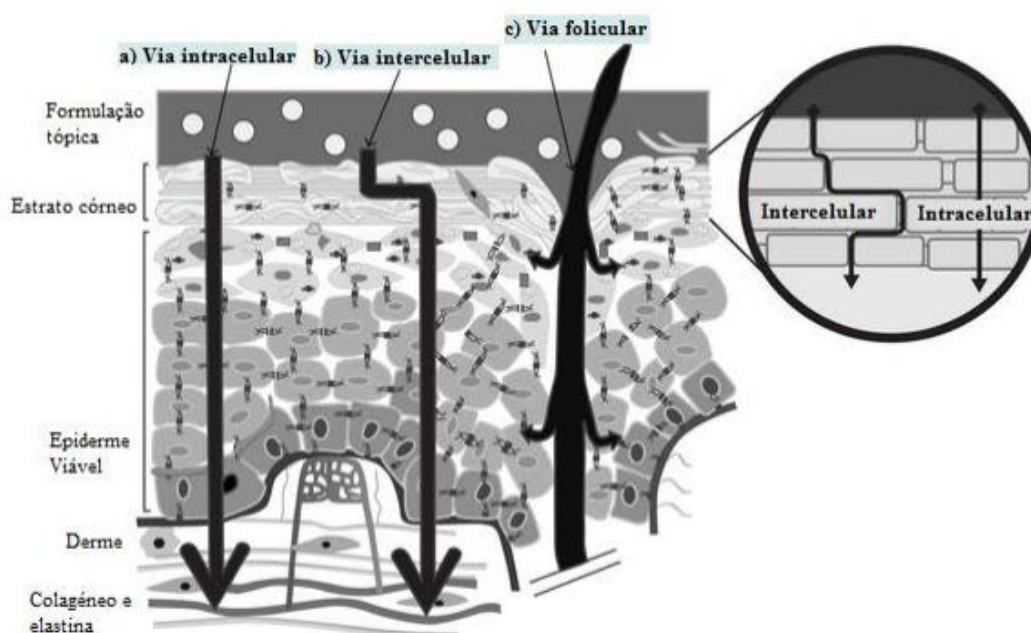


Figura 3- Vías de penetración a través de la piel intacta(16)

Dicho esto, la penetración hasta capas profundas de la piel por parte de los transferosomas se produce gracias a dos factores clave: la elevada deformabilidad de estos, derivada de su formulación, y la presencia de un gradiente osmótico que favorece el hidrotaxismo hacia el interior, siendo ésta la fuerza motriz que introduce los transferosomas hacia la dermis.

En la piel existe un gradiente osmótico, debido a su función osmorreguladora, que evita la deshidratación del organismo creando una barrera hidrofóbica con el medio. En las capas más profundas existe una mayor cantidad de agua (hasta un 75% del contenido en la epidermis), mientras que, en las capas más externas como el estrato córneo, el contenido en agua se reduce hasta un 15%. (17)

Los transferosomas están formados por fosfolípidos hidrofílicos, los cuales interaccionan con las moléculas de agua con gran afinidad, siendo un proceso muy favorable energéticamente, lo cual crea una resistencia a la deshidratación muy elevada. Es por esto por lo que avanzan a favor del gradiente osmótico de la piel hacia áreas con

mayor actividad hidrófila, la dermis en este caso, evitando así esta deshidratación poco favorable desde el punto de vista entálpico. (9)

Esto ocurriría con gran cantidad de moléculas, si no fuese por el pequeño radio de los poros que están disponibles para que estas partículas puedan pasar por vía intercelular. Es por esto, que la mayoría de las moléculas no son capaces de pasar más allá de las primeras capas de la piel. En cambio, los transferosomas son extremadamente flexibles gracias a la presencia del EA¹ en la bicapa y requieren de muy poca energía para activarse y adaptarse a tamaños de poro más pequeños que ellos mismos, por lo que la fuerza motriz del gradiente osmótico es suficiente para que atraviesen estos poros entre las células de la epidermis. (11)

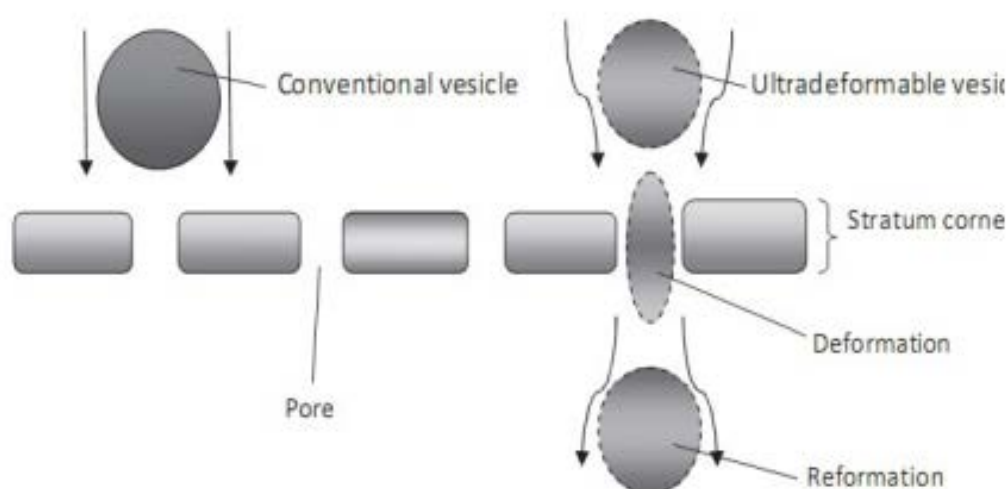


Figura 4 – Diagrama del mecanismo de penetración (18)

No ocurre así con los liposomas, que al ser mucho más rígidos requieren de una energía de activación mucho mayor de la que este gradiente es capaz de aportar, siendo incapaces de introducirse en capas más profundas, por lo que se quedan atrapados en la epidermis, donde la cantidad de agua disponible es mucho menor. Esto provoca un estrés osmótico que los lleva a perder parte del agua que estaba hidratando los grupos hidrófilos de los fosfolípidos (19), dejándolos libres y por tanto, permitiendo que interactúen con otros grupos análogos presentes en liposomas próximos, desarrollando el fenómeno de coalescencia por el cual se unen. (17) Para poder evitar esto se podría intentar reducir la resistencia a la penetración de la piel mediante promotores, pero, aun así, los liposomas al no ser lo suficientemente flexibles, muchos se romperían vertiendo su contenido al medio, antes de llegar a las capas deseadas.

Una vez el transportador ha llegado a las capas más internas, en donde la cantidad de agua es suficiente para estar en equilibrio con el nivel menos energético de hidratación, es decir, el estado de entalpía más favorable, los transferosomas quedan retenidos y les puede suceder tres cosas: primero pueden sufrir una endocitosis, fusionando sus membranas con una célula del organismo si éstas son lo suficientemente compatibles y volcando su contenido en el interior celular; segundo, pueden quedarse retenidos en la zona, por lo que irán liberando su contenido poco a poco por difusión pasiva; o tercero, pueden penetrar por los capilares y de ahí pasar a circulación sistémica en donde liberarán su contenido. (9)

¹ EA= "Edge activator" – Surfactante/Tensioactivo

3. OBJETIVOS

- Establecer y definir el concepto de transferosoma, diferenciándolo así de liposomas y otras nanopartículas usadas en dermocosmética.
- Ofrecer una visión global del desarrollo de los transferosomas a lo largo de los años, desde su invención e investigación hasta su introducción en la industria cosmética y su comercialización.
- Destacar las ventajas de esta tecnología con respecto a otras y relacionarla con sus usos actuales y potenciales en la industria.
- Realizar una revisión de los últimos avances en la utilización de los transferosomas.
- Determinar el futuro próximo de esta tecnología en la industria cosmética, así como en la farmacéutica.

4. METODOLOGÍA

Se ha realizado una revisión bibliográfica de artículos científicos, mayoritariamente de habla inglesa, publicados en bases de datos on-line como NCBI y PubMed entre otras.

Se ha comparado la información de diferentes fuentes, contrastando la veracidad y exactitud de los datos ofrecidos, seleccionando aquellos constatados por diferentes estudios con la intención de aportar una revisión más exacta y actualizada.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Métodos de fabricación

La fabricación de estos sistemas a gran escala es compleja, a pesar de la existencia de diversos métodos para producirlos a nivel de laboratorio, ya que el escalado hasta el nivel industrial está aún lejos de ser rentable. Quizás esto, sea una de las razones por las que aún se resiste la entrada en el mercado de formulaciones con esta tecnología a pesar de haber demostrado su eficacia para llegar a circulación sistémica. (11)

Surgen múltiples problemas a la hora de tener que fabricar transferosomas de una forma eficiente y a gran escala, las cuales son, principalmente, el elevado coste de los lípidos, la posible contaminación del producto final por restos del disolvente que no se han conseguido eliminar durante la fabricación y la falta de elasticidad en determinadas formulaciones que transportan principios activos hidrofóbicos. A pesar de esto, con la probable llegada de mejoras en la automatización y una posible reducción de precios en algunas materias primas como los fosfolípidos o los surfactantes, que aportan la mayoría del gasto económico de entre las materias primas, pueden llegar a ser una opción muy viable no solo para la industria farmacéutica, sino también para la cosmética, en donde el mercado es más competitivo y cambiante.

Actualmente todas las alternativas de fabricación se reducen, a grandes rasgos, en dos fases: una primera en la que se obtienen las vesículas ya sea por rehidratación o por

sonicación y una segunda en la que se hacen pasar por una membrana de policarbonato por extrusión para homogenizar el tamaño de estas.

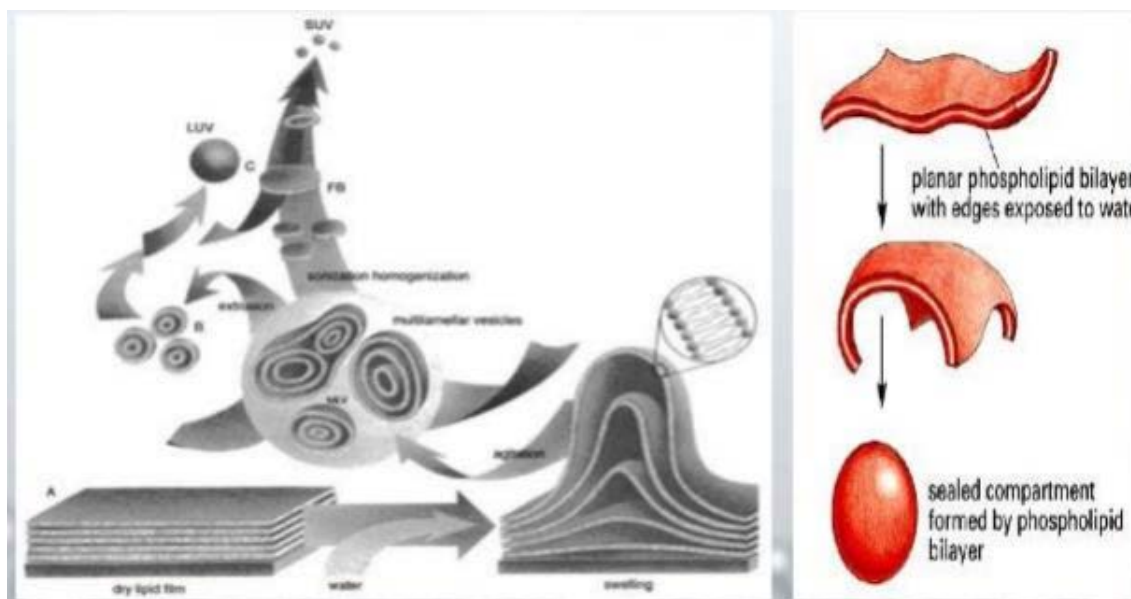


Figura 5 – Mecanismo de formación de vesículas por plegamiento de una bicapa lipídica (20)

Para conseguir un producto final acorde con las necesidades, es casi tan importante la preformulación como la fabricación, ya que es clave, que el ratio fosfolípido:surfactante sea el adecuado, del que derivarán todas las características de los transferosomas, desde la flexibilidad, hasta la estabilidad física, e incluso la eficacia de encapsulación. Es por esto por lo que, dependiendo de la finalidad del producto, la proporción de estos componentes se ajuste para conseguir una penetración óptima hasta la capa deseada. Un exceso de tensioactivo puede suponer un aumento en la ruptura de los transferosomas en las primeras capas, y un defecto puede suponer un déficit de flexibilidad que le impida atravesar los microporos de la piel comprometiendo su penetrabilidad. (21)

Los métodos de fabricación de Transferosomas® son los siguientes(22):

- Método del rotavapor (“Rotary film evaporation method”): Método inicialmente introducido para otros vectores por Bangham et al. (1965) (23) y desarrollado para Transferosomas® por Cevc et al. (1997) (24), que consiste en introducir en un matraz de fondo redondo la mezcla de fosfolípidos y surfactante disueltos en etanol u otro solvente y ponerlo en el rotavapor a baja presión y temperatura superior a la de transición de los lípidos ($\approx 40^{\circ}\text{C}$), hasta la completa evaporación del disolvente. Para evitar que puedan quedar restos del solvente, se puede dejar toda una noche a vacío. Una vez hecho esto, se rehidrata la fina capa que ha quedado sobre el matraz mediante una solución tamponada que contenga el API² durante 1 hora a 60 rpm, tras lo que se les dejará reposar a temperatura ambiente durante 2 horas más para que se hinchen. (17) Se formarán así vesículas multilamelares grande, que deberán ser sometidas a un proceso de sonicación para formar vesículas de un tamaño correcto. Finalmente, para asegurar que las vesículas tienen el tamaño deseado se puede realizar un

² API: “Active Pharmaceutical Ingredient” – Principio activo

proceso de extrusión manual a través de una membrana de policarbonato con el tamaño de poro adecuado.

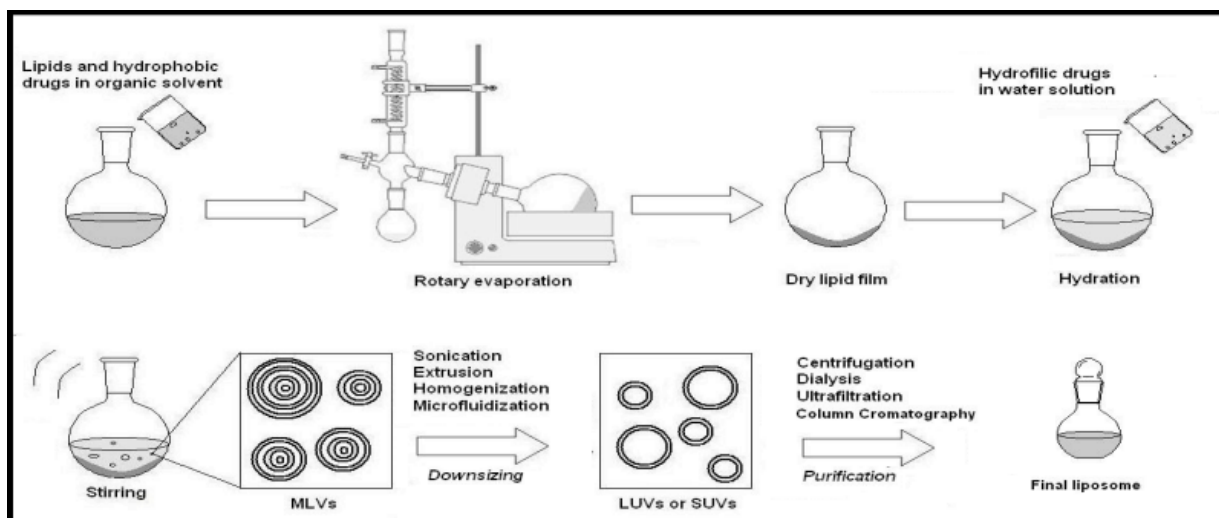


Figura 6 – Esquema fabricación liposomas/transfersomas por el método del rotavapor (25)

- Método de evaporación en fase reversa: este método fue descrito por primera vez para la formación de liposomas de alta capacidad encapsuladora por Szoka, F., & Papahadjopoulos, D., 1978 (26), pero es adaptable para la formación de transfersomas siguiendo los mismos pasos. En este método se introduce en un matrazo de fondo redondo la mezcla de los lípidos disueltos en solvente adecuado, el cual se evaporará usando baja presión. Posteriormente se añade algo más de solvente y se añade una atmósfera inerte, típicamente de nitrógeno. Se añade después la fase líquida con el API y un sistema tampón de pH controlado. Se eliminará el disolvente orgánico como explicado anteriormente, hasta que se forme una especie de gel, que revertirá rápidamente hasta una suspensión en la que estarán las vesículas ya formadas. Por sonicación se ajustará su tamaño, retirando posteriormente la fase acuosa sobrante mediante diálisis o centrifugación (26). Como último paso se realiza la extrusión a través de la membrana de policarbonato
- Mezcla por vórtice y sonicación: Este método menos usado que el resto, consiste en mezclar los lípidos con la fase acuosa constituida principalmente con el tampón más el API si este fuese hidrófilo. Una vez mezclados se agita la mezcla por rotación hasta formar un vórtice. Se deja así hasta obtener una apariencia lechosa, que indicará la formación de las micelas y se sonicará después hasta obtener el tamaño deseado, tras lo cual se extrudirá a través del filtro de policarbonato. (27)
- Mediante inyección de etanol: Método cuyas principales ventajas son el adecuado escalado para la producción de lotes más grandes, vital en la industria, la simplicidad y la reproducibilidad, debido en gran parte a que no es necesario una sonicación posterior, la cual es muy difícil de escalar correctamente. (28) Estos aspectos lo hacen el más adecuado para trabajar a gran escala. Es un método muy utilizado para la obtención de liposomas y se tiene la vista puesta

en que sea aplicable para transferosomas, aunque son necesarios aún estudios que garanticen una obtención de vesículas con una distribución de tamaño y composición apropiada. Trabajos como Garg V. et al. (2017) (29) recogen este método como una de las formas de producción de Transferosomas® aunque la documentación que aportan para apoyar este método solo habla de su uso para liposomas por lo que es un método sin bibliografía que lo contraste, aunque en teoría funcione.

El método consiste en inyectar una solución con los fosfolípidos y surfactantes gota a gota sobre una solución acuosa calentada y con agitación constante. Los lípidos disueltos al entrar en contacto con la fase acuosa precipitan formando las vesículas y controlando el volumen de la gota inyectada se puede obtener el tamaño de las vesículas deseado, ahorrándose así la sonicación habitual. Tras esto, la extrusión por filtros garantiza un tamaño homogéneo final.

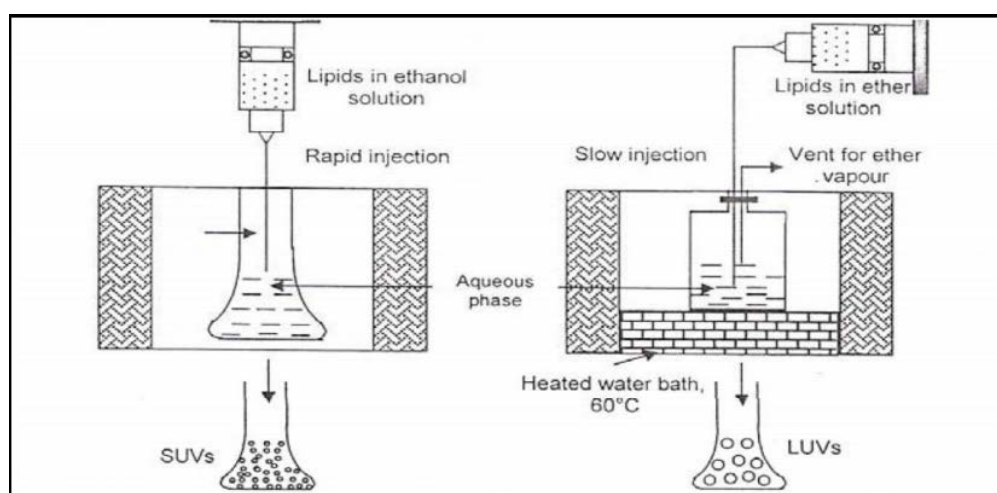


Figura 7 – Esquema formación vesículas mediante el método de inyección de etanol (25)

- Ciclos de congelación y descongelación: En este método, el menos eficiente energéticamente hablando, se empieza con vesículas multilamelares ya preformadas, las cuales se ven sometidas de 8 a 9 ciclos (30), de congelación con nitrógeno líquido, seguido de descongelación introduciéndolas en un baño a $\approx 60^{\circ}\text{C}$. Se pasa así a tener vesículas monolamelares, las cuales serán extruidas como en el resto de los métodos.

B. Presencia en la industria farmacéutica

Dada la versatilidad de los transferosomas para transportar tanto moléculas lipófilas como hidrófilas, éstos pueden ser usados en formulaciones junto con una gran cantidad de principios activos de distinta naturaleza. Su proyección en esta área es inmensa, aunque los esfuerzos en la actualidad se centran en demostrar que su eficacia terapéutica es lo suficientemente buena para justificar su elevado precio, en comparación con las estrategias terapéuticas habituales como son la vía oral o la vía subcutánea.

Gracias también a la elevada capacidad de encapsulación que ofrecen los transferosomas, su utilización en terapéutica no solo se ve reducida a moléculas simples, sino que también se ha demostrado su utilidad, en la administración de macromoléculas como la insulina (11) o proteínas (31). Esto ha abierto un nuevo campo de estudio, que

intenta explorar la posibilidad de utilizar estos sistemas para conseguir una inmunización más efectiva y sin los inconvenientes para el paciente de la perforación de tegumentos como ocurre en la administración subcutánea.

Actualmente la mayoría de las formulaciones se encuentran en ensayos clínicos, más o menos avanzados, pendientes de ver si merece la pena incorporar al mercado estos sistemas, analizando la relación coste-beneficio. Otras formulaciones están aún en fases previas, como es el caso de aquellas que buscan administrar grandes proteínas para inmunizar. Las familias terapéuticas que mejor pronóstico tienen para beneficiarse de esta tecnología en un futuro próximo son varias, entre las que destacamos las siguientes:

- **AINES:** Destaca el caso del ketoprofeno, el cuál es el que más estudios tiene, estando próximo a ser autorizado por la EMA para su comercialización en Europa para el tratamiento de la inflamación y el dolor en osteoartritis, bajo la denominación comercial Diractin®. Actualmente la solicitud de comercialización ha sido retirada por la propia compañía que lo desarrolla, IDEA AG, debido a que la eficacia terapéutica de su presentación a la dosis propuesta no está clara y quieren realizar más estudios. (32) Es por esto por lo que no se sabe aun cuando saldrá al mercado, aunque las esperanzas están puestas en que no será dentro de mucho.

En otros países como Suiza, una presentación similar sí que está comercializada por esta misma empresa, llamada "Ketoprofen transdermal". Mientras que en la India también existen presentaciones similares en forma de parche, aunque la composición exacta no se ha podido obtener por lo que no se sabe si realmente usan esta tecnología.

Las ventajas que los transferosomas aportan en la administración de esta familia de moléculas son claras: un menor riesgo de efectos adversos gastrointestinales que por vía oral, una mayor localización del efecto terapéutico en dolores articulares y superficiales y, una alternativa efectiva a las inyecciones intraarticulares o subcutáneas, poco aceptadas por los pacientes.

- **Insulina:** La posibilidad de administrar insulina mediante este tipo de formulaciones ya ha sido estudiada, y se ha visto que es posible conseguir administrar cantidades suficientes para tratar la DM I³ con resultados terapéuticos similares a los conseguidos mediante administración subcutánea (11).

Esto aporta claros beneficios ya que se puede mantener un aporte continuo de insulina durante al menos 16 horas, con una única administración, lo que le evitaría al paciente incómodos pinchazos durante el día con los riesgos que ello conlleva, sobre todo en pacientes ancianos. Como contrapunto, hay que indicar que la utilización de Transferulin®, que es como han denominado a este tipo de transferosomas, está limitada al mantenimiento de unos niveles basales de insulina y no a situaciones de emergencia en donde se necesite un pico alto de insulinemia en poco tiempo, debido a que por este método existe un periodo de latencia de hasta 6 horas (33). Este periodo de latencia tan largo se debe a que, hasta llegar al torrente sanguíneo, las vesículas deben atravesar varios estratos y la insulina debe sufrir dos procesos de difusión, de la vesícula al medio extracelular y de éste al torrente circulatorio.

³ DM I: Diabetes mellitus tipo I

No existen planes inmediatos de llevar esta tecnología al mercado, ya que el beneficio para el paciente está aún por ser evaluado y, a pesar de haber demostrado una eficiencia similar a las inyecciones subcutáneas, el elevado coste de desarrollo, junto a que no existe una necesidad apremiante para un cambio en la terapéutica habitual (el tratamiento actual de la DM I permite una calidad de vida muy buena), ha ralentizado el desarrollo de los Transferosomas[®] en esta área.

- **Corticoesteroides:** Debido a las diversas y en ocasiones graves RAMs⁴ que presentan los glucocorticoides por vía sistémica (Vía oral o vía parenteral), éstos son unos candidatos magníficos para beneficiarse de una administración transdérmica gracias a que ofrece una mayor localización del efecto. Esto permite que se puedan conseguir concentraciones terapéuticas en el lugar de acción deseado mediante la administración de dosis totales mucho menores que por otras vías, hasta 10 veces menores en el caso del acetónido de triamcinolona (27).

Se han realizado múltiples estudios en esta área, destacando el de Cevc y Blume (2003) (34), en el cuál se comparó la actividad del acetónido de triamcinolona administrado mediante Transferosomas[®] frente a su administración tópica tradicional en lociones/cremas, concluyendo que la formulación transdérmica aportaba beneficios en cuanto a velocidad de acción, especificidad de acción y dosis total utilizada (reduciéndola), evidenciando una clara ventaja terapéutica de los transferosomas frente a las administraciones tópicas habituales.

Otros logros a destacar de la utilización de principios activos de esta familia en formulaciones con Transferosomas[®] han sido las siguientes: una mayor capacidad de reducir edemas en ratas mediante dexametasona (17), un aumento en las concentraciones de estradiol en la epidermis frente a administración en solución acuosa y liposomas convencionales y un aumento de penetración a través de piel de cerdo frente a lociones acuosas y liposomas convencionales (33).

- **Proteínas:** Cómo se demostró con la insulina, los transferosomas son capaces gracias a su elevada capacidad de encapsulación, de transportar moléculas complejas como proteínas, a través del epitelio humano. La imposibilidad de administrar estas moléculas por vía oral, ya que se degradan totalmente en el aparato gastrointestinal, reduce actualmente su administración únicamente a inyecciones. Esto podría cambiar en un futuro gracias al avance en la administración transdérmica, en donde los transferosomas juegan un importante papel.

Estudios actuales demuestran que su efectividad es comparable a la de inyecciones subcutáneas, consiguiendo valores similares en cuanto a biodisponibilidad (35). Se han obtenido resultados positivos también en estudios con interferones e interleucinas. (36)

La vista está puesta ahora en la introducción de esta tecnología en el campo de la inmunización, permitiendo un avance en la eficacia de las vacunas. A parte de la ya comentada ventaja de que permiten olvidarse de los incómodos pinchazos que acompañan en la mayoría de ocasiones a las vacunas, estudios recientes en

⁴ RAMs: Reacciones Adversas a Medicamentos

animales con albúmina humana, han demostrado que la administración de estas proteínas inmunogénicas administradas transcutáneamente, tienen, como mínimo, el mismo poder de inmunización que la inyección subcutánea de la suspensión vesicular de estos mismos agentes (37), con la ventaja de que aumentan el ratio IgA/IgG. Otros estudios con la toxina tetánica concluyeron que los Transferosomas[®] conseguían niveles de IgG similares (Tras la segunda administración) a aquellos obtenidos mediante administración intramuscular del toxoide adsorbido sobre aluminio (AATT⁵)(38). Estudios similares se han repetido con antígenos de hepatitis B y con proteínas de la unión gap (GJP⁶), todos ellos con resultados similares que avalan su potencial inmunogénico así como su ventaja frente a otros nanotransportadores como niosomas, o liposomas en este campo (27).

- **Genes:** La terapia génica está actualmente en rápido desarrollo debido a su gran capacidad para tratar enfermedades genéticas de difícil pronóstico ya que ha abierto una puerta al tratamiento de estas enfermedades que antes eran incurables. La necesidad de nuevos métodos para introducir este material genético en las células diana es vital para continuar desarrollando esta técnica, que actualmente depende totalmente de virus para ello. Esto supone un elevado coste, casi prohibitivo para el sistema nacional de salud (SNS). Este elevado coste del método actual ha provocado que se ponga la mirada en los Transferosomas[®], en concreto sobre aquellos que contienen un surfactante catiónico. Esto se debe a su mayor afinidad con el ADN (el cual tiene carga negativa) y, por tanto, a su mayor capacidad de encapsulación, aumentando el tiempo que puede estar liberando estos genes en el órgano diana. Algunos estudios han demostrado que este tipo de formulaciones mantienen la expresión de los genes administrados en el lugar deseado durante al menos 6 días (39), lo cual es un inicio prometedor para que esta tecnología permita reducir el coste de esta terapia hasta hacerla algo más asequible para aquellas personas que se puedan beneficiar de ella.
- **Anticancerosos:** La creciente preocupación por los diferentes cánceres de piel, cada vez más comunes y, por tanto, la necesidad de nuevos y más efectivos tratamientos ha llevado a la investigación de los Transferosomas[®] como transportadores de fármacos anticancerosos. Al existir múltiples tipos de cáncer de piel (melanomas, queratosis actínica, carcinoma basocelular, carcinoma espinocelular, etc), existen múltiples fármacos con indicación en cada uno de ellos. Se han realizado múltiples estudios con diversas moléculas para determinar su compatibilidad con los Transferosomas[®], siendo posible y positiva su asociación en todos ellos. El ejemplo más característico lo encontramos con el 5- Fluorouracilo. En este caso se comparó una vesícula ultraflexible que utiliza como tensioactivo al N-decil-metil-sulfóxido (surfactante no iónico) denominada Tumorep DS[®] con la ya comercializada crema Efudex[®](40), demostrando una IC₅₀⁷ diez veces menor que aquella de la marca comercial. También se comparó con nanotransportadores de su misma familia como son los niosomas y etosomas, demostrando también su ventaja terapéutica frente a estos (41). Esta

⁵ AATT: "Alum-Absorbed Tetanus Toxoid"

⁶ GJP: "Gap-Junction Protein"

⁷ IC₅₀: Concentración máxima inhibitoria media

ventaja se debe a la ya mencionada alta eficiencia de penetración a través de la piel, lo que le permite trasladar un mayor porcentaje de la dosis total administrada, aumentando la eficacia de la administración a la vez que reduce la toxicidad del fármaco en cuestión ya que localiza mucho más la acción siendo menos probable su dispersión por el cuerpo.

- **Anestésicos:** Se han realizado diversos estudios con anestésicos locales muy comunes como la lidocaína o la benzocaína, demostrando su utilidad en el tratamiento del dolor localizado superficial (42). Conviene destacar que estos estudios se han realizado en humanos, lo que le da un valor extra frente a otros estudios que usaban modelos animales. Presenta efectividad similar a un bolus subcutáneo, con la ventaja de que su acción es más duradera en el tiempo (43).

C. Presencia en la industria cosmética

A diferencia de la industria farmacéutica, la presencia de los Transferosomas[®] en la industria cosmética es muy reducida, limitándose a un par de estudios que teorizan sobre una posible aplicación en el futuro, dado los resultados positivos que los Transferosomas[®] arrojaron en dichos estudios. Posibles causas de esto las encontramos en la patente, propiedad de IDEA AG, que financia estudios farmacológicos, pero no dermocosméticos, ya que no se trata de una empresa especializada en esta área. También se debe a las propias características del sector cosmético, muy cambiante e innovador, que no se puede permitir capitalizar en una tecnología cara como ésta si no aporta un beneficio claro ya que, debido a la competencia feroz, no podría beneficiarse de un margen de beneficio muy amplio que le permita recuperar la inversión necesaria para financiar el desarrollo de esta tecnología, que como hemos dicho, no tiene demasiados estudios aún que la amparen. También podemos encontrar causas de su poca participación en este sector en las propias características de los Transferosomas[®], ya que al ser los nanotransportadores que más profundo penetran, en muchas ocasiones se pasan de las capas medias de la piel llegando a circulación sistémica y, por ende, solo son útiles para el tratamiento de alteraciones cuyo origen se encuentre en las capas profundas de la dermis como las arrugas, teniendo un nicho de mercado muy reducido. Esto les da una ventaja a otros nanotransportadores menos eficaces en cuanto a penetración, pero que son más sencillos de controlar, para ser utilizados por los laboratorios, ocurriendo así que encontramos múltiples cosméticos que usan liposomas, etosomas o fitosomas (44). Por último, los escollos burocráticos junto con las altas demandas de calidad y seguridad de las agencias europeas y americanas, principales mercados en los que interesaría introducir un producto de alta calidad de por sí caro, no contribuyen a que crezca el interés de las principales casas comerciales por esta tecnología y prefieren seguir apostando por los liposomas tradicionales que aún les dan beneficios.

Como ya hemos mencionado, los Transferosomas[®] tienen como ventaja en cuanto al cuidado de la piel que actúan en los estratos más profundos de la piel por lo que son capaces abordar problemas como la aparición de arrugas desde su causa primera, actuando en la dermis. Esto ha sido estudiado por Swarnlata S. et al. (12), cuya investigación utilizó un extracto de *Curcuma longa* con propiedades fotoprotectoras, antiirritantes, antiinflamatorias, hidratantes y antiarrugas, entre otras, vehiculizado por Transferosomas[®]. Al final del estudio se concluyó que esta formulación era estable y segura, además de que demostró capacidad de mejorar la elasticidad, firmeza y reducir

la fatiga en la piel, dejando abierta la posibilidad de más estudios que comparasen su efectividad frente a otras formulaciones más contrastadas.

Los estudios más recientes de 2019 destacan las ventajas de la utilización de Transferosomas® para formular productos de alta inestabilidad (física o química) y que debido a esto no sean adecuados para las formulaciones típicas, a pesar de ser principios activos de sobra conocidos por sus características farmacológicas positivas sobre la piel.

Este es el caso del resveratrol, un antioxidante natural con carácter antiinflamatorio utilizado efectivamente para tratar aterosclerosis y con potencial para prevenir crecimientos tumorales o enfermedades cardiovasculares gracias a ese marcado carácter antioxidante. A pesar de estas ventajas, se trata de una molécula fotosensible e inestable a varios factores ambientales como la temperatura o la humedad. Debido a esto, su utilización en cremas o demás formulaciones tópicas es compleja y no tan efectiva como cabría esperar, y su forma de utilización más común es en cápsulas, lo que condiciona su acción en articulaciones y a nivel cutáneo.

Se trata por tanto de un candidato magnífico para beneficiarse de las ventajas aportadas por los Transferosomas®, ya que estos lo protegerían de todos estos factores ambientales además de concederle una mayor penetración, biodisponibilidad y una menor citotoxicidad como ha sido demostrado por Wu, P-S. et al. (45)

En 2011 se patentó un producto que utilizaba extracto de ámbar para mejorar la firmeza de la piel, destacando una posible variante en la cual se incorporaba este extracto a un vector vesicular tipo liposomal que controlase la liberación del principio activo en capas profundas (46). La composición exacta no se hizo pública, pero demuestra que tecnologías muy parecidas son utilizadas con éxito ya a nivel industrial y que el desarrollo va en el camino correcto.

D. Retos a superar y futuro próximo

A pesar de las claras ventajas que aporta la utilización de los Transferosomas® sobre otros sistemas parecidos utilizados durante años, aún no han dado el paso hacia delante que se esperaba para ocupar un lugar importante en la terapéutica global. La falta de estudios y la falta de un primer referente comercial que abra el camino lastran el desarrollo de esta tecnología, aunque es posible que en los próximos años esto cambie, precipitándose los acontecimientos cuando se consiga la comercialización de alguno de los productos en fases clínicas: Directin® (Fase III), Transfersulin® (Fase I) o acetónido de triamcinolona (Prueba controlada aleatorizada) (29).

Aun así, sobre todo debido a la retirada de la solicitud de comercialización de Directin® por falta de datos de eficacia, la precaución con este sistema vesicular es necesaria, sobre todo ante la falta de datos y ensayos debido al gran secretismo que rodea el desarrollo de los Transferosomas®. Éstos tienen el potencial de convertirse en piedra angular de la administración transdérmica, aunque también es posible que acaben en nada si no se consiguen solucionar problemas clave como son su elevado coste, su falta de inclusión en ensayos clínicos y su difícil fabricación a nivel industrial.



Figura 8 – Crema facial con resveratrol

6. CONCLUSIONES

Los transferosomas[®], gracias a su elevada elasticidad y estabilidad física derivada de una formulación inteligente que aprovecha las características de los surfactantes, son capaces de penetrar por espacios mucho más pequeños que su diámetro, lo que les aporta una eficacia de penetración en la piel muy útil para la formulación de múltiples fármacos que, de otra forma, no podrían ser administrados de forma tópica. Son vehículos que han demostrado su utilidad en diversos campos farmacológicos, siendo compatibles con multitud de fármacos sin importar su naturaleza, hidrófila o lipófila, o su tamaño, lo que abre la puerta a la mejora de múltiples tratamientos, así como a nuevos tratamientos contra enfermedades de difícil terapéutica. Sus principales ventajas son un aumento de la dosis efectiva, un descenso de las posibles complicaciones por toxicidad del fármaco transportado y un aumento en la acción terapéutica. Este sistema presenta ventajas frente a vías de administración más habituales como son la oral o parenteral por lo que se debería tener en cuenta como otra opción en determinadas situaciones.

A pesar de las ventajas que en principio aporta, los escollos para su utilización siguen siendo importantes, por lo que es necesario que continúe la investigación hasta determinar el verdadero potencial que esconde. Su introducción en la industria cosmética no se ve cercana, por lo que habrá que esperar primero a ver como se desenvuelve en la farmacéutica y cuando haya suficientes estudios con conclusiones firmes quizás los veamos entrar con fuerza en este mercado.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Cevc G, Blume G. *Lipid vesicles penetrate into intact skin owing to the transdermal osmotic gradients and hydration force*. Vol. 1104, Biochimica et Biophysica Acta. 1992.
2. Jain S, Patel N, Shah MK, Khatri P, Vora N. *Recent Advances in Lipid-Based Vesicles and Particulate Carriers for Topical and Transdermal Application*. J Pharm Sci. 2017 Feb;106(2):423–45.
3. Kumar R, Philip A, Kumar P&. *Modified Transdermal Technologies: Breaking the Barriers of Drug Permeation via the Skin*. Vol. 6, Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 2007.
4. Akiladevi D, Basak S. *Ethosomes - a noninvasive approach for transdermal drug delivery*.
5. Pola Chandu V, Arunachalam A, Jeganath S, Yamini K, Tharangini K, Chaitanya G. *Niosomes: A Novel Drug Delivery System*. Vol. 2. 2012
6. Verma S, Singh SK, Syan N, Mathur P, Valecha V. *Nanoparticle vesicular systems: A versatile tool for drug delivery*. J Chem Pharm Res. 2010;2(2):496–509.
7. Hua S. *Lipid-based nano-delivery systems for skin delivery of drugs and bioactives*. Front Pharmacol. 2015;6:219.
8. Sachan R, Parashar T, Singh V, Singh G, Tyagi S, Patel C, et al. *Drug carrier transfersomes: a novel tool for transdermal drug delivery system*.;2(2):309–16.
9. Rajan R, Vasudevan D, Biju Mukund V, Jose S. *Transferosomes - A vesicular transdermal delivery system for enhanced drug permeation*. J Adv Pharm Technol Res. 2011 Jul;2(3):138.
10. *Agregado con deformabilidad incrementada, que comprende por lo menos tres componentes anfipáticos, para un transporte mejorado a través de barreras*

- semipermeables y para la aplicación de fármacos no invasiva in vivo, especialmente a través de la piel.* 2003 Patente disponible en: <https://patents.google.com/patent/ES2298566T3/es>
11. Cevc G, Gebauer D, Stieber J, Schätzlein A, Blume G. *Ultraflexible vesicles, Transfersomes, have an extremely low pore penetration resistance and transport therapeutic amounts of insulin across the intact mammalian skin.* Biochim Biophys Acta - Biomembr. 1998 Jan 19;1368(2):201–15.
 12. Saraf PS, Jeswani G, Kaur DCD, Saraf S. *Development of novel herbal cosmetic cream with Curcuma longa extract loaded transfersomes for antiwrinkle effect.* African J Pharm Pharmacol. 2011;5:1054–62.
 13. *Skin Anatomy: Overview, Epidermis, Dermis.* Disponible en: <https://emedicine.medscape.com/article/1294744-overview>
 14. *¿Qué es el cáncer de piel tipo melanoma?.* Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-piel-tipo-melanoma/acerca/que-es-melanoma.html>
 15. *5.1 Layers of the Skin – Anatomy and Physiology.* Disponible en: <https://opentextbc.ca/anatomyandphysiology/chapter/5-1-layers-of-the-skin/>
 16. Imagen tomada de : <https://www.hindawi.com/journals/isrn/2014/843687.fig.005.jpg>
 17. Jain S, Jain P, Umamaheshwari RB, Jain NK. *Transfersomes—A Novel Vesicular Carrier for Enhanced Transdermal Delivery: Development, Characterization, and Performance Evaluation.* Drug Dev Ind Pharm. 2003 Jan 10;29(9):1013–26.
 18. Walve JR, Bakliwal SR, Rane BR, Pawar SP. *Transfersomes: a surrogated carrier for transdermal drug delivery system.*
 19. Cevc G. *Lipid vesicles and other colloids as drug carriers on the skin.* Adv Drug Deliv Rev . 2004 Mar;56(5):675–711.
 20. *Uso de vehículos: ¿Desde cuando?.* Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/acarreadores_32149.pdf
 21. Shen Y, Zhang Y LM. *Preparation and quality evaluation of drug loading transfersomes.* Med J Chin People's Lib Army. 2007;10.
 22. Rai S, Pandey V, Rai G. *Transfersomes as versatile and flexible nano-vesicular carriers in skin cancer therapy: the state of the art.* Nano Rev Exp. 2017 Jan 7;8(1):1325708.
 23. Bangham AD, Standish MM, Watkins JC. *Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids.* J Mol Biol. 1965 Aug 1;13(1):238-IN27.
 24. Cevc G, Blume G, Schätzlein A. *Transfersomes-mediated transepidermal delivery improves the regio-specificity and biological activity of corticosteroids in vivo.* J Control Release . 1997 Apr 7;45(3):211–26.
 25. Lallave Hernandez C, Olacia LS, López P, Grupo M. *Objetivos.* Disponible en: <https://www.ucm.es/data/cont/docs/136-2015-01-27-NIOSOMAS.pdf>
 26. Szoka F, Papahadjopoulos D. *Procedure for preparation of liposomes with large internal aqueous space and high capture by reverse-phase evaporation.* Proc Natl Acad Sci. 1978 Sep 1;75(9):4194–8.
 27. Rai K, Gupta Y, Jain A, Jain SK. *Transfersomes: self-optimizing carriers for bioactives.* PDA J Pharm Sci Technol. 2008 Sep 1;62(5):362–79.
 28. Charcosset C, Juban A, Valour J-P, Urbaniak S, Fessi H. *Preparation of liposomes at large scale using the ethanol injection method: Effect of scale-up and injection*

- devices. Chem Eng Res Des. 2015 Feb;94:508–15.
29. Garg V, Singh H, Bimbrawh S, Singh SK, Gulati M, Vaidya Y, et al. *Ethosomes and Transfersomes: Principles, Perspectives and Practices*. Curr Drug Deliv. 2017 Jul 28;14(5).
 30. Maestrelli F, González-Rodríguez ML, Rabasco AM, Mura P. *Effect of preparation technique on the properties of liposomes encapsulating ketoprofen–cyclodextrin complexes aimed for transdermal delivery*. Int J Pharm. 2006 Apr;312(1–2):53–60.
 31. Paul A, Cevc G BB. *Transdermal immunization with large proteins by means of ultradeformable drug carriers*. Eur J Immunol. 1995;
 32. European Medicines Agency, Press office. *Idea AG withdraws its marketing authorisation application for Diractin (ketoprofen)*. 2008
 33. Pathak Y, Thassu D. *Drug delivery nanoparticles formulation and characterization*. Informa Healthcare; 2009.
 34. Cevc G, Blume G. *Biological activity and characteristics of triamcinolone-acetonide formulated with the self-regulating drug carriers, Transfersomes®*. Biochim Biophys Acta - Biomembr. 2003 Aug;1614(2):156–64.
 35. Syeda A, Sultana S, Sailaja K. *Transfersomes-A Novel approach in the design of transdermal drug delivery system*. Int J Pharma Chem Res I.;1.
 36. Hafer, C., Goble, R., Deering, P., Lehmer, A., Breut J. *Formulation of interleukin-2 and Interferon- α containing ultradeformable carriers for potential transdermal application*. Anticancer Res. 1999;1505–12.
 37. Paul A, Cevc G, Bachhawat BK. *Transdermal immunization with large proteins by means of ultradeformable drug carriers*. Eur J Immunol. 1995 Dec;25(12):3521–4.
 38. Gupta PN, Mishra V, Rawat A, Dubey P, Mahor S, Jain S, et al. *Non-invasive vaccine delivery in transfersomes, niosomes and liposomes: a comparative study*. Int J Pharm. 2005 Apr;293(1–2):73–82.
 39. Kim A, Lee EH, Choi S-H, Kim C-K. *In vitro and in vivo transfection efficiency of a novel ultradeformable cationic liposome*. Biomaterials. 2004 Jan;25(2):305–13.
 40. Ainbinder D, Touitou E. *A new approach for skin tumor treatment: from delivery system characterization to in vivo evaluation*. Drug Deliv Transl Res. 2011 Feb 6;1(1):53–65.
 41. Alvi IA, Madan J, Kaushik D, Sardana S, Pandey RS, Ali A. *Comparative study of transfersomes, liposomes, and niosomes for topical delivery of 5-fluorouracil to skin cancer cells: preparation, characterization, in-vitro release, and cytotoxicity analysis*. Anticancer Drugs. 2011 Sep 1;22(8):774–82.
 42. Planas ME, Gonzalez P, Rodriguez L, Sanchez S, Cevc G. *Noninvasive percutaneous induction of topical analgesia by a new type of drug carrier, and prolongation of local pain insensitivity by anesthetic liposomes*. Anesth Analg. 1992 Oct;75(4):615–21.
 43. Reddy YD, Sravani AB, Ravisankar V, Prakash PR, Siva Y, Reddy R, et al. *Transfersomes A Novel Vesicular Carrier for Transdermal Drug Delivery System*. JIPBS. 2015;2(2):193–208.
 44. Antunes afv, reis dcp. *Sistemas nanoparticulados aplicados à dermocosmética*. 2016.
 45. Wu P-S, Li Y-S, Kuo Y-C, Tsai S-J, Lin C-C. *Preparation and Evaluation of Novel*

- Transfersomes Combined with the Natural Antioxidant Resveratrol*. *Molecules*. 2019 Feb 8;24(3):600.
46. Golz-Berner K, Zastrow L MR. *Cosmetic and dermatologic oxygen carrier system*. United States; US 8,252,297, 2012.