

**NANOTECNOLOGIA FARMACÈUTICA:
DE LES DISPERSIONS COL·LOÏDALS
ALS NANOSISTEMES TERAPÈUTICS**

DISCURS

llegit a l'acte d'ingrés de l'Acadèmica Corresponent
Il·lustre Prof. Dra. María José García Celma
Celebrat el dia 9 de juliol de 2012

Presentació a càrrec de l'Acadèmic Numerari
Molt il·lustre Prof. Dr. Josep Maria Suñé i Negre

Barcelona
2012

*L' Acadèmia no es fa solidària de
les opinions que s' esposen en les
publicacions, de les quals és responsable
l' autor:*

Dipòsit legal: B-22.666-2012
T.G. VIGOR, S.A.

**Excel·lentíssim Senyor President,
Excel·lentíssims i Il·lustríssims Senyores i Senyors Acadèmics,
Digníssimes autoritats,
Senyores i senyors,**

No cal dir que per mi és una gran alegria que la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya hagi tingut l'amabilitat de confiar-me fer la presentació de la Prof. Dra. María José García Celma amb motiu del seu discurs d'ingrés com a acadèmica corresponent d'aquesta docta corporació. No tan sols pel fet de ser una molt bona companya de professió i de feina, sinó també una bona amiga amb qui he compartit i compartim uns mateixos ideals de vida dins la militància cristiana, cadascú en el seu àmbit d'actuació.

La professora García Celma es llicencià en Farmàcia l'any 1985, i s'incorporà inicialment a la indústria farmacèutica per desenvolupar la seva tasca professional, concretament a Laboratoris Menarini, on romangué fins l'any 1986, en què assolí per concurs de mèrits una plaça de professora ajudant de Farmàcia Galènica a la Facultat de Farmàcia de Barcelona. Aquest fet fou possible perquè, en acabar la llicenciatura, no deixà en cap moment la seva relació amb la Facultat de Farmàcia, ja que desenvolupà la tesina de grau a la llavors càtedra de Farmàcia Galènica amb els professors i acadèmics numeraris d'aquesta Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya, Dr. Cemeli i Dr. Salazar, i que presentà el febrer de 1986.

Així, integrada com a docent a temps complet a la Facultat de Farmàcia, desenvolupà una important i intensa tasca docent, que féu simultàniament amb la recerca necessària corresponent a la seva tesi doctoral. D'aquesta manera, assolí el grau de Doctora en Farmàcia l'any 1989, amb una tesi de clar contingut tecnològic dirigida per dos altres acadèmics numeraris, els professors Dr. Del Pozo Carrascosa i jo mateix. L'any 1990 guanyà per concurs oposició una plaça de professora titular d'universitat, que segueix ocupant actualment dins la Unitat de Tecnologia Farmacèutica de

la Facultat de Farmàcia de Barcelona. Posteriorment, assolí el títol de farmacèutica especialista en Farmàcia Industrial i Galènica l'any 2000 i el de farmacèutica especialista en Anàlisi de Medicaments i Drogues l'any 2002.

Finalitzada la tesi doctoral, entrà l'any 1989 en contacte amb el grup de recerca del CSIC de Barcelona dirigit per la Dra. Conxita Solans: la seva sempre bona disposició de caràcter afable i col·laboratiu, la seriositat en el treball i la il·lusió personal per la recerca i el desenvolupament personal féren que ràpidament l'acceptessin i anés fent-se un lloc en aquest grup. Actualment és membre destacada del Grup de Recerca Consolidat de la Generalitat de Catalunya anomenat Tensioactius, que dirigeix com a investigadora principal la Dra. Conxita Solans, i és membre del CIBER-BBN (Centre de Recerca Biomèdica en Xarxa en Bioenginyeria, Biomaterials i Nanomedicina) de l'Institut de Salut Carles III dins el Grup QCI (Química Col·loïdal i Interficial). Integrada en aquest grup de recerca, aconseguí donar un enfocament farmacèutic i galènic a una recerca bàsica fonamentada en el coneixement de tensioactius, l'estudi de sistemes col·loïdals, els processos d'emulsificació (emulsions i nano-emulsions) i l'estudi d'alliberament de fàrmacs des de noves formes de dosificació per administració tòpica i presistèmica, línies de recerca que encara desenvolupa actualment i que han donat uns fruits espectaculars: la publicació de nombrosos articles en revistes d'impacte científic reconegut, com ara *Journal of Colloid and Interface Science*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *Skin Pharmacology and Physiology*, *Plasma Processes and Polymers*, *Langmuir*, etc. Així mateix, és coautora de capítols de llibres, té una patent, és investigadora principal de tres projectes competitiu, investigadora de deu altres projectes competitiu i participant en deu projectes amb finançament privat. També cal esmentar que és *referee* de revistes especialitzades indexades, avaluadora de projectes ANEP i AQU i responsable de la Unitat Associada de R+D al CSIC anomenada Desenvolupament de Medicaments en Sistemes Tensioactius Nanoestructurats des de l'any 2005.

Ara bé, el caràcter sempre inquiet de la professora García Celma ha fet que no tan sols es limités a desenvolupar la seva tasca docent i de recerca com a professora d'universitat. En efecte, ha estat capaç

de compatibilitzar aquesta activitat amb una intensa tasca de servei i gestió ocupant càrrecs d'importància dins la mateixa Universitat i dins d'associacions de caràcter professional. Així, fou i és membre de la Junta de la Facultat i integra diferents comissions de treball, membre de la Comissió de Doctorat de la Facultat de Farmàcia i membre de diverses comissions de màsters oficials de la UB. Finalment, cal dir que ha codirigit vuit tesis doctorals i en porta la direcció o codirecció de cinc més.

No puc donar per finalitzada aquesta sempre incompleta presentació sense tenir en compte aquelles persones que han estat i són importants en la vida de la doctora María José García Celma. És en aquestes ocasions en què es pot compartir públicament la felicitat i l'agraïment a aquelles persones que més ens estimen i a qui més estimem: el pare (en pau descansi) i la mare, les dues germanes, però sobretot el marit, en Jesús, amb qui ha format una llar cristiana seguint un model que, malgrat que sembla que no està pas de moda, manté uns valors humans fonamentats en una profunda fe. També estic convençut que la joia d'aquest moment la viuen com a matrimoni pensant en els seus quatre fills, Andreu, Àlvaro, Àlícia i Albert, amb la il·lusió que fa el viure construint un futur encoratjador i ple d'esperança.

Agraeixo l'atenció que m'heu dispensat i només em resta felicitar la mateixa professora María José García Celma pel seu ingrés com a acadèmica corresponent, així com la seva família, amics i també la mateixa Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya per la incorporació d'un membre més que l'ha de fer cada cop més gran i més nova, ja que la renovació de persones ha de generar, indubtablement, noves fites i perspectives de futur.

Moltes gràcies.



**NANOTECNOLOGIA FARMACÈUTICA:
DE LES DISPERSIONS COL·LOÏDALS
ALS NANOSISTEMES TERAPÈUTICS**

DISCURS

d'ingrés de l' Acadèmica Corresponent
Il·lustre Prof. Dra. María José García Celma



**Excel·lentíssim Senyor President,
Molt Il·lustres Senyores i Senyors Acadèmics,
Senyores i senyors,
Estimats familiars i amics,**

Vull expressar la meva satisfacció i el meu profund agraïment a la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya i especialment als Molt Il·lustres Acadèmics Josep Maria Suñé i Negre, Elvira Bel Prieto i Alfons del Pozo i Carrascosa, per haver-me proposat com a nova acadèmica corresponent. Voldria, de nou, donar moltes gràcies al Molt Il·lustre Professor Josep Maria Suñé i Negre per les seves amables paraules de presentació. Va ser ell, precisament, qui em va introduir en l'apassionant món de la Farmàcia galènica fins i tot abans d'acabar els meus estudis de Farmàcia, qui m'ha donat suport sempre i amb qui he mantingut una estreta col·laboració professional, així com amb el Dr. del Pozo i la Dra. Bel. Ells van estar a prop meu des dels inicis i espero continuar gaudint de la seva amistat encara per molts anys.

És per mi un gran honor, i un motiu d'orgull, poder ser membre d'aquesta prestigiosa Reial Acadèmia. Espero poder complir dignament les responsabilitats que implica aquest nomenament.

L'èxit a la vida professional d'una persona està directament relacionat a la qualitat dels mestres que han modelat el seu treball des de l'inici. Jo he tingut la sort de comptar amb mestres excel·lents. Al començament de la meua carrera vaig comptar amb el suport i l'encoratjament del professor Josep Maria Suñé i Arbussà i del seu fill, el professor Josep Maria Suñé i Negre, sense els quals, segurament, jo no seria avui aquí, ni tampoc estaria exercint la meua professió a la Facultat de Farmàcia. Ells em van ensenyar a estimar i valorar la Farmàcia galènica, a no defallir davant de les adversitats i a mirar sempre endavant. L'any 1989, vaig tenir la sort de conèixer la Dra. Conxita Solans, professora d'investigació del Consell Superior d'Investigacions Científiques (CSIC), a través del meu amic Dr. Albert Manich, també professor d'investigació del CSIC. Vaig fer una estada de recerca postdoctoral sota la direcció de la Dra. Solans, i va ser ella qui em va introduir en el món dels tensioactius. Hem continuat la col·laboració de llavors ençà i espero continuar fent-ho durant molts anys. He après amb ella tot el que sé d'emulsions, de nanotecnologia i, més

important encara, uns valors humans i una manera de treballar que procuro transmetre als estudiants que comencen. Mai li ho podré agrair prou.

A més, avui m'agradaria compartir la satisfacció personal i professional del moment amb totes aquelles persones que, d'una manera o d'una altra, han fet possible el camí que m'ha dut fins aquí. Després de 25 anys de professió, són moltes. A totes elles, el meu sincer agraïment per la seva ajuda i pacient col·laboració. No vull deixar de fer un esment especial dels companys i companyes del Departament de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de Barcelona i també dels companys del grup de Química Col·loïdal i Interficial del Departament de Nanotecnologia Química i Biomolecular de l'Institut de Química Avançada de Catalunya, del CSIC, del qual formo part com a membre de la Unitat associada de recerca des de l'any 2005. Ja són molts anys de treballar junts sempre superant les dificultats gràcies a l'esforç conjunt i amb un esperit positiu i lluitador. Moltes gràcies a tots.

També vull agrair a tota la meva família —especialment als meus pares, als meus avis i als meus oncles— el suport i la comprensió que han demostrat al llarg de les diferents etapes de la meva vida.

Finalment, en aquest capítol d'agraïments, ha d'ocupar sens dubte un lloc preferent el meu espòs, Jesús, i els meus fills Andreu, Àlvaro, Àlicia i Albert. Tots ells han demostrat una immensa generositat envers la meva dedicació professional. En la mesura de les meves possibilitats, sempre he intentat fer compatible la vida professional i la vida de família, com crec que ha de ser. Amb la família sempre he trobat l'estímul i el suport necessari per anar endavant.

Moltes gràcies a tots!

A continuació procediré a llegir el discurs d'ingrés. L'elecció del tema del discurs obliga a reflexionar sobre diverses possibilitats. La meva implicació en la docència i la recerca en Farmàcia galènica des de l'inici de la meva vida professional i la recerca en desenvolupament de medicaments en sistemes tensioactius nanoestructurats a la Facultat de Farmàcia i com a membre de la Unitat associada al CSIC, em van fer decidir pel tema de la Nanotecnologia farmacèutica. Precisament l'any 2007 em van encarregar la preparació i la im-

partició d'una assignatura fonamental al màster oficial Nanociència i Nanotecnologia de la Universitat de Barcelona que relacionés els avenços de la nanotecnologia amb la Farmàcia galènica. A l'assignatura resultant, que he estat impartint des del curs 2007-2008 fins a l'actualitat, la vaig anomenar Nanotecnologia Farmacèutica. És el tema del discurs d'ingrés, que pretén relacionar l'actual revolució nanotecnològica amb la galènica del futur, i destacar les possibilitats i les dificultats per al desenvolupament de nous medicaments a escala industrial.



Nanotecnologia farmacèutica: de les dispersions col·loïdals als nanosistemes terapèutics

Índex

1. La revolució nanotecnològica	15 pàg.
2. Nanomedicina	16 pàg.
3. Farmàcia galènica, Nanotecnologia farmacèutica i nanosistemes terapèutics	18 pàg.
4. Nanosistemes terapèutics basats en dispersions col·loïdals.....	21 pàg.
4.1. Preparació i caracterització dels nanosistemes terapèutics	22 pàg.
4.2. Exemples de nanosistemes terapèutics.....	23 pàg.
4.2.1. Micel·les polimèriques i fosfolipídiques.....	24 pàg.
4.2.2. Microemulsions.....	25 pàg.
4.2.3. Nano-emulsions	26 pàg.
4.2.4. Emulsions altament concentrades	27 pàg.
4.2.5. Liposomes.....	28 pàg.
4.2.6. Nanopartícules polimèriques	29 pàg.
4.2.7. Nanopartícules sòlides lipídiques	30 pàg.
4.2.8. Nanopartícules magnètiques	31 pàg.
4.2.9. Nanopartícules metàl·liques inorgàniques.....	32 pàg.
4.2.10. Punts quàntics	33 pàg.
4.3. Vectorització mitjançant nanosistemes terapèutics...34 pàg.	
4.3.1. Vectorització basada en el receptor de folat	34 pàg.
4.3.2. Vectorització basada en anticossos monoclonals	35 pàg.
4.3.3. Vectorització basada en aptàmers.....	35 pàg.
4.3.4. Vectorització basada en dendrímers.....	36 pàg.
4.3.5. Vectorització basada en integrines	37 pàg.
4.3.6. Vectorització basada en el receptor del pèptid intestinal vasoactiu.....	37 pàg.
5. Requeriments de la Nanotecnologia farmacèutica per ser acceptada per la indústria farmacèutica	38 pàg.
6. Conclusions.....	40 pàg.
7. Bibliografia	41 pàg.



1. La revolució nanotecnològica

En l'àmbit de la ciència, de tant en tant apareix una nova terminologia que representa una nova tendència. *Bioteχνologia*, *enginyeria genètica*, *enginyeria de teixits*, *teràpia gènica*, *química combinatòria*, *cribratge d'alt rendiment*, són alguns exemples de nova terminologia apareguda. Recentment, *nanociència* i *nanotecnologia* han arribat a ser termes populars que representen els principals esforços de la ciència actual i la tecnologia (1).

La *nanociència* es defineix com l'estudi dels fenòmens i la manipulació dels sistemes físics que produeix informació significativa en una escala de l'espai coneguda com a nano (10^{-9} m = 1 nm) fins a un límit crític que no excedeix 100 nm en longitud almenys en una direcció. D'aquesta manera, les nanotecnologies se centren en el disseny, la caracterització, la producció i l'aplicació de components i sistemes nanoscòpics (2). Els límits entre les regions físiques macroscòpiques, microscòpiques i nanoscòpiques no estan ben definits i depenen dels efectes que es consideren (3), però la reducció de la mida de partícula d'un material fins a un cert límit produeix l'aparició de noves propietats (2).

La denominació *nanotecnologia* va ser proposada per un enginyer japonès, Norio Taniguchi (4). Aquest terme originàriament es referia a una tecnologia que anava més enllà de la que havia controlat materials i enginyers a escala micromètrica. El significat actual és més proper al formulat per Eric Drexler (5), i correspon a una metodologia de procés, manipulativa àtom per àtom. Es pot definir la nanotecnologia com l'enginyeria i la fabricació de materials a escala atòmica i molecular (2).

La nanotecnologia s'ha rebut amb un entusiasme fora de mida a causa del seu potencial que revoluciona cadascun dels camps en els quals s'està aplicant. La nanotecnologia és única perquè no representa una sola àrea específica sinó una àmplia varietat de disciplines que van des de la ciència bàsica de materials fins a les aplicacions cosmètiques (1). En l'alliberament de fàrmacs, la nanotecnologia està tenint un gran impacte. No obstant això, molts dels actuals nanosistemes d'alliberament de fàrmacs són variants de sistemes d'alliberament de fàrmacs convencionals, que estan en el rang nanomètric, com ara els liposomes, les micel·les polimèriques,

les nanopartícules, els dendrímers i els nanocristalls. Els liposomes i les micel·les polimèriques es van preparar per primera vegada els anys seixanta i les nanopartícules i els dendrímers els anys setanta. Les partícules col·loïdals d'or de mida nanomètrica van ser preparades per primera vegada per Michael Faraday fa més de cent cinquanta anys, però no es van anomenar *nanopartícules* ni es van relacionar amb la nanotecnologia fins fa poc temps. Fa uns trenta anys, les partícules d'or col·loïdal es van conjugar amb anticossos per immunotinció amb anticossos específics (6). Aquesta aplicació es pot considerar un precursor de les aplicacions actuals de les partícules d'or en nanotecnologia. La importància de la nanotecnologia en l'alliberament de fàrmacs rau en el concepte i en la capacitat de manipular molècules i estructures supramoleculares per fabricar dispositius amb funcions programades.

2. Nanomedicina

La *nanomedicina* es defineix com la ciència i la tecnologia per al diagnòstic, el tractament i la prevenció de malalties i lesions traumàtiques, per al tractament del dolor i la preservació i millora de la salut humana, utilitzant eines moleculars i coneixements moleculars del cos humà. La nanomedicina abasta cinc subdisciplines, que sovint se sobreposen i s'interrelacionen: 1) eines analítiques, 2) nanocaptació d'imatges, 3) nanomaterials i nanodispositius, 4) noves molècules terapèutiques i sistemes d'alliberament de fàrmacs i 5) aspectes clínics, regulatoris i toxicològics (7).

L'objectiu de la nanomedicina es pot definir com el monitoratge, el control, la construcció, la reparació, la defensa i la millora exhaustius de tots els sistemes biològics humans, treballant des del nivell molecular utilitzant dispositius i nanoestructures amb la finalitat d'obtenir beneficis clínics. En aquest context, la nanoescala inclou components actius o inerts en l'interval d'un a cent nanòmetres. Es podran incloure en un microdispositiu (que podria tenir una macrointerfície) o en un medi biològic. L'objectiu està sempre en les nanointeraccions en el marc d'un dispositiu més gran o, biològicament, en un sistema subcel·lular o cel·lular (7). En l'administració de fàrmacs, descriure la nanotecnologia basada en un límit de mida és inútil perquè l'eficàcia i la utilitat dels sistemes d'alliberament de fàrmacs no es basen només en la

seva mida. Els sistemes d'alliberament de fàrmacs útils van des de veraders nanosistemes (p. ex. conjugats fàrmac-polímer i micel·les polimèriques) fins a micropartícules de l'ordre de 100 µm. Tant els sistemes en l'escala nanomètrica com en la micromètrica han estat molt importants per al desenvolupament de sistemes d'alliberament de fàrmacs clínicament eficaços. Per raons pràctiques, des d'aquesta perspectiva, la nanotecnologia inclou microtecnologia i nanofabricació i els seus microequivalents (1).

La nanomedicina, com altres tecnologies aparegudes abans, té un increïble potencial per revolucionar la terapèutica i el diagnòstic sota la premissa de desenvolupar nanodispositius enginyosos. Els nanosistemes per a l'administració de fàrmacs constitueixen una part important de la nanomedicina. La miniaturització dels dispositius, les tecnologies basades en xips i, d'altra banda, els nanomaterials cada vegada més sofisticats i els ensamblatges químics estan proporcionant noves eines que contribueixen a millorar la salut en el segle XXI. Les aplicacions contribuiran a obtenir millors diagnòstics així com tractaments innovadors i tecnologies que permetin la regeneració i la reparació dels teixits. No obstant això, per aconseguir els millors resultats de la nanomedicina caldrà desenvolupar noves regulacions per part de les autoritats sanitàries per assegurar una transferència segura i reproduïble dels avenços en nanomedicina des del laboratori fins al malalt. Quan s'aplica la nanotecnologia a usos mèdics, és particularment important assegurar una avaluació segura de qualsevol nova tecnologia i revisar l'impacte que té en el medi ambient. En cada cas específic caldrà fer una curosa avaluació risc-benefici (7).

Els darrers trenta anys, Europa ha estat capdavantera en el desenvolupament de moltes tecnologies i la recerca en l'àrea de l'alliberament de fàrmacs encara està progressant. La ciència farmacèutica és especialment forta, però la recerca és cada vegada més interdisciplinària a tot Europa i a tot el món. Hi ha un gran nombre de programes i iniciatives estratègiques a Europa que promouen la recerca interdisciplinària i la formació en l'alliberament de fàrmacs i s'han promogut xarxes d'excel·lència i projectes específics per millorar les activitats a l'àrea de nanomedicina.

3. Farmàcia galènica, Nanotecnologia farmacèutica i nanosistemes terapèutics

L'objectiu principal de la Farmàcia galènica és el disseny, la fabricació i el control de formulacions farmacèutiques, considerades com el producte resultant del procés tecnològic que confereix als medicaments les característiques adients per facilitar-ne l'administració, assegurar-ne la dosificació correcta i assolir una eficàcia terapèutica òptima (8). Les formes farmacèutiques o galèniques no són simples suports dels principis actius, sinó que poden modular-ne l'eficàcia i la seguretat de l'ús (8,9).

La Farmàcia galènica és una ciència aplicada encaminada al disseny raonat de nous medicaments, sobre la base dels principis i avenços de les ciències bàsiques de les quals es val per a la seva finalitat; la tecnologia ajudarà a aconseguir la millor manera de produir el medicament dissenyat (10). Així doncs, s'entén la Farmàcia galènica com una ciència aplicada al medicament; és a dir, generadora de tecnologia (9).

La Farmàcia galènica segueix tenint com a objectiu la resolució d'un problema farmacoterapèutic, fent ús dels coneixements proporcionats per la Tecnologia farmacèutica, la Biofarmàcia i la Farmacocinètica i encara sent una ciència típicament farmacèutica pel seu contingut i la seva finalitat; actualment hi estan treballant investigadors d'àrees molt diverses: bioquímics, físics, químics de polímers, etc. (11). El farmacèutic adopta els nous avenços científics i tècnics que es van produint i intenta aplicar-los per poder elaborar de forma seriada un medicament (12). L'última transformació profunda que ha patit la tecnologia farmacèutica és una conseqüència de la necessitat de disposar de noves formes de dosificació adequades per al nombre creixent de molècules terapèutiques procedents del desenvolupament de la biotecnologia (11).

Si l'objectiu de la Farmàcia galènica és la resolució d'un problema terapèutic aplicant els coneixements de la Biofarmàcia, la Farmacocinètica i la Tecnologia farmacèutica, és indubtable que la nanomedicina planteja una nova orientació, ja que els sistemes dissenyats interactuaran amb nous medis biològics i en alguns casos a escala molecular, la qual cosa requereix una àmplia col·laboració interdisciplinària. Per això és necessària una estreta col·laboració entre

biòlegs moleculars, bioquímics, matemàtics, fisicoquímics, enginyers, etc., i el tecnòleg farmacèutic pot ser l'interlocutor entre el clínic i l'equip multidisciplinari (13).

Amb l'aplicació de la nanotecnologia és possible aconseguir: 1) un millor alliberament de fàrmacs poc solubles en aigua, 2) la vectorització de fàrmacs a cèl·lules o teixits específics, 3) la transició de fàrmacs a través de barreres epitelials i endotelials, 4) l'alliberament de macromolècules a llocs d'acció intracel·lulars, 5) l'alliberament de dos o més fàrmacs en teràpies combinades, 6) la visualització del lloc d'alliberament del fàrmac per la combinació d'agents terapèutics i de visualització, 7) la lectura a temps real de l'eficàcia *in vivo* d'un agent terapèutic (14).

La denominació *nanosistemes terapèutics* o *nanomedicaments* (*nanopharmaceuticals*) inclou sistemes d'alliberament de fàrmacs i molècules amb activitat biològica. La *Nanotecnologia farmacèutica* es podria definir com la ciència i la tecnologia de sistemes complexos a escala nanomètrica, constituïts per almenys dos components, un dels quals és un principi actiu (7). També es defineix com la ciència i la tecnologia dels sistemes nanoparticulats farmacèutics (13). Tenint en consideració la definició de *Farmàcia galènica* com a ciència aplicada al medicament i generadora de tecnologia (9), es podria considerar la Nanotecnologia farmacèutica com la part de la Farmàcia galènica que estudia els nanosistemes terapèutics o nanomedicaments.

El desenvolupament de les diferents tecnologies emprades per a la preparació dels diversos nanosistemes terapèutics no constitueixen actualment l'únic objectiu de la Nanotecnologia farmacèutica, ja que també interessa conèixer els factors que com la mida, la càrrega superficial o la hidrofobicitat de la superfície condicionen la seva cinètica d'eliminació i biodistribució (11).

L'alliberament d'un fàrmac de manera precisa i segura al seu lloc d'acció en el període de temps correcte per tenir un alliberament controlat i aconseguir el màxim efecte terapèutic continua sent un criteri per al disseny i desenvolupament d'un nou sistema d'alliberament de fàrmacs. El concepte de vectorització de fàrmacs (*drug targeting*) prové de la idea de minimitzar la relació entre risc i benefici. Els nanosistemes terapèutics, també denominats *nanovehicles*

(*nanocarriers*), en les seves variades formes, proporcionen possibilitats inesgotables en l'àrea de l'administració de fàrmacs (*drug delivery*) (15, 16). Malgrat que la tecnologia és encara nova, s'han publicat més de 1000 patents nanofarmacèutiques per part de *The United States Patent and Trademark Office (USPTO)* durant el període 1999-2008 (17).

En les darreres tres dècades, Europa ha estat pionera en la recerca i el desenvolupament de nanotransportadors de fàrmacs com ara liposomes, nanopartícules, anticossos i els seus conjugats, conjugats polimèrics, medicaments moleculars (incloent-hi proteïnes) i diferents aspectes nanobiotecnològics com ara l'enginyeria i la reparació de teixits. Està augmentant el nombre de nanosistemes terapèutics comercialitzats i agents de captació d'imatge. Entre aquests cal destacar liposomes anticancerosos, conjugats fàrmac-anticòs, conjugats polímer-proteïna, agents de captació d'imatges basats en nanopartícules i sistemes d'alliberament d'anticancerosos. També hi ha un gran nombre de sistemes en desenvolupament clínic. Els futurs desenvolupaments es construiran a partir dels èxits obtinguts en la primera generació de nanomedicaments.

Els nanosistemes terapèutics han accedit ja a la rutina clínica i Europa ha estat pionera en aquest camp. El repte més urgent és l'aplicació de la nanotecnologia al disseny de materials multifuncionals estructurats capaços d'arribar a llocs específics o que continguin grups funcionals que permetin el transport a través de barreres biològiques. A més, són necessàries matrius (*scaffolds*) nanoestructurades per l'enginyeria de teixits, dispositius sensibles als estímuls per a l'alliberament de fàrmacs i sistemes vectoritzats per a l'administració local de molècules terapèutiques (per exemple, per via pulmonar, ocular o a través de la pell). Per aconseguir els beneficis clínics desitjats ràpidament, és necessari focalitzar el disseny de tecnologies en malalties específiques: les àrees prioritàries són el càncer, les malalties neurodegeneratives i cardiovasculars. A llarg termini, les prioritats inclouran el disseny de sistemes sintètics, bioestimulats per l'alliberament intracel·lular de biomolècules terapèutiques (vectors sintètics per teràpia gènica) i autoregulats per respostes biològiques, com per exemple nanoestructures intel·ligents com ara biosensors acoblats a nanosistemes terapèutics (7). Els nanodispositius i microdispositius es poden desenvolupar per diagnosticar i tractar a la vegada (teragnosi) i suposen un futur prometedor en la medicina personalitzada (18).

4. Nanosistemes terapèutics basats en dispersions col·loïdals

Tradicionalment en tecnologia farmacèutica s'han emprat les dispersions col·loïdals per a la vehiculació de fàrmacs, com a substàncies auxiliars o amb el fàrmac formant part de la mateixa dispersió. En formulacions farmacèutiques convencionals es descriuen dispersions col·loïdals hidròfobes i hidròfiles, fonamentalment col·loides per associació formulats amb tensioactius i dispersions polimèriques. La nanotecnologia actual fa ús d'aquestes dispersions col·loïdals per preparar nanosistemes terapèutics i és el coneixement fisicoquímic d'aquests sistemes el que permetrà optimitzar la formulació dels nanosistemes i controlar la preparació, la reproducibilitat, l'estabilitat i l'alliberament de la molècula activa.

Els nanosistemes terapèutics col·loïdals, tenint en compte la seva elevada relació entre àrea superficial i volum, presenten una farmacocinètica i biodistribució dels agents terapèutics millorada i d'aquesta manera minimitzen la toxicitat per la seva acumulació preferencial al lloc d'acció (19). Milloren la solubilitat dels compostos hidrofòbics i els fan adequats per ser administrats per via parenteral. A més, augmenten l'estabilitat de diversos agents terapèutics, com ara pèptids, oligonucleòtids, etc. (20). Es poden utilitzar per a l'alliberament de fàrmacs al sistema nerviós central perquè tenen una mida més petita i una permeabilitat a les barreres més elevada. La utilització de materials biodegradables minimitza les possibilitats de reaccions d'hipersensibilitat i permet una bona compatibilitat tissular (21). De manera ideal, un nanosistema terapèutic hauria de ser capaç de proporcionar una extensa circulació sanguínia, i alliberar la fracció activa al lloc d'acció i evitar el sistema endosoma-lisosoma (22). Hi ha tres objectius principals en la recerca en l'alliberament de fàrmacs en l'actualitat: alliberament i vectorització més específics, més seguretat i biocompatibilitat i desenvolupament més ràpid de medicaments nous i segurs.

Els nanosistemes terapèutics que actualment s'estan desenvolupant són sistemes multicomponent, autoassemblats o conjugats per enllaços covalents, per exemple: fàrmac, proteïna i polímer. Els materials emprats per crear aquests nanosistemes són polímers sintètics o semisintètics i/o materials naturals com ara lípids, polímers i proteïnes. Si es classifiquen segons la seva funció, molts materials

emprats per a l'alliberament de fàrmacs són sensibles a estímuls biològics i/o biomimètics. S'han proposat nombrosos nanosistemes com a transportadors de fàrmacs: micel·les, nano-emulsions, nanopartícules, nanocàpsules, nanogels, liposomes, nanotubs, nanofibres, polímers terapèutics i nanodispositius. Les nanopartícules magnètiques s'estan desenvolupant per diagnòstic per la imatge i vectorització, com per exemple, vectorització a nòduls limfàtics i hepàtics després d'una administració intravenosa.

4.1. Preparació i caracterització dels nanosistemes terapèutics

Els mètodes de preparació dels nanosistemes terapèutics generalment estan desenvolupats seguint les bases de dos dissenys racionals: l'enginyeria dels components individuals descendent (*top-down*) i ascendent (*bottom-up*) (19). El procés *top-down* suposa començar amb un objecte gran i trencar-lo en nanoestructures mitjançant ablació o mòlta. El procés es pot accelerar afegint productes químics o mitjançant la utilització de làser. La producció a microescala o a macroescala, per exemple la microfabricació de silicó i la fotolitografia, es realitza normalment mitjançant processos *top-down*. No obstant això, el mètode consumeix temps i sovint genera àmplies distribucions de mida de les partícules (23). La tècnica *bottom-up* es refereix a la síntesi basada en l'ordenació àtom per àtom o molècula per molècula de forma controlada, que es regula per mètodes termodinàmics (24). El procés té lloc mitjançant autoassemblatge per interaccions moleculars febles i per reaccions químiques controlades, en fase gas o líquida, que donen lloc a la nucleació i el creixement de nanopartícules. Les tècniques *bottom-up* (com ara tècniques antisolvent en fluids supercrítics, mètodes de precipitació, etc.) creen masses de partícules fortament aglomerades, que no es disgreguen quan són reconstituïdes (25).

Entre els mètodes de preparació de nanosistemes terapèutics, cal destacar:

- mètodes d'homogeneïtzació d'alta pressió
- mètodes de coacervació complexa
- mètode de coprecipitació
- mètode *salting-out*
- mètode de nanoprecipitació
- mètode d'emulsificació-difusió del solvent

- mètodes de fluids supercrítics
- ràpida expansió de solucions supercrítiques
- precipitació de l'antisolvent supercrítica
- mètodes d'autoassemblatge (*self-assembly*).

Paral·lelament al desenvolupament de les tecnologies, s'han de desenvolupar formulacions farmacèutiques que es puguin administrar d'una manera adequada als malalts i que tinguin una estabilitat acceptable.

També cal disposar de tècniques analítiques validades per l'anàlisi i el control dels complexos nanosistemes terapèutics. Cal desenvolupar tècniques fisicoquímiques noves per l'etapa d'escalat dels processos de preparació. Una de les prioritats és la determinació de la distribució dels nanosistemes terapèutics a l'organisme, després de la seva administració per qualsevol via, per la qual cosa cal desenvolupar modalitats de visualització de la biodistribució en funció del temps (26). S'estan utilitzant cada vegada més tècniques d'imatge a escala molecular (per exemple, AFM) i models *in vitro* (per exemple, cèl·lules Caco-2, models de barrera hematoencefàlica, models de pell) i *in vivo*, per comprendre millor la farmacocinètica a escala cel·lular i a tot l'organisme. Igualment cal estudiar acuradament les correlacions farmacocinètiques i farmacodinàmiques per dissenyar els sistemes de vectorització de fàrmacs i l'alliberament controlat (7).

4.2. Exemples de nanosistemes terapèutics

Els nanosistemes terapèutics (fàrmac i sistema d'alliberament) consisteixen en combinacions o assemblatges a la nanoescala, que poden ser relativament senzills (per exemple, nano-emulsions, nanopartícules o conjugats polimèrics de proteïnes o fàrmacs) o sistemes complexos multicomponent que contenen fàrmacs, proteïnes o gens, amb lligands per la vectorització i sistemes de senyalització que en permetin la detecció *in vitro* o *in vivo*.

4.2.1. Micel·les polimèriques i fosfolipídiques

Les micel·les polimèriques són estructures nanoscòpiques constituïdes per nucli i coberta formades per autoassemblatge espontani de copolímers amfifílics en di- o triblocs, amb un nucli hidrofòbic i una superfície externa hidrofílica o al revés. Contenen regions hidrofíliques i hidrofòbiques en la seva estructura i són uns bons candidats per a fàrmacs poc solubles (27, 28). Les micel·les polimèriques multifuncionals es poden dissenyar per facilitar simultàniament l'alliberament del fàrmac i la visualització d'imatges. La seva estabilitat està en funció d'intenses forces cohesives entre el fàrmac i segments polimèrics del nucli així com de l'entrecruament de la coberta o del nucli, que es produeix per polimerització de radicals (29). La circulació perllongada de les micel·les polimèriques i l'alliberament al lloc diana és possible pel disseny de micel·les polimèriques que responen a estímuls de l'ambient (pH, llum, temperatura, ultrasons, etc.) (30).

El pH al voltant d'un tumor és més àcid (de 6,5 a 7,2) per comparació al dels teixits sans. Per això, les micel·les polimèriques s'han utilitzat com a vehicles sensibles al pH per a l'alliberament de fàrmacs (31-34).

S'ha estudiat l'alliberament micel·lar de fàrmacs mitjançant ones ultrasòniques (de 20 a 40 kHz) perquè és una tècnica no invasiva i amb capacitat d'alliberar el fàrmac a un nivell profund a l'interior del tumor (35-38).

Les micel·les polimèriques termosensibles presenten variacions en les propietats del polímer com a resposta a petits canvis de temperatura. Consisteixen en un nucli intern polimèric hidrofòbic i un embolcall extern polimèric sensible a la temperatura, que es torna hidrofílic per sota de la seva més baixa temperatura crítica en solució (*lower critical solution temperature, LCST*) i hidrofòbic per sobre d'aquesta temperatura (31). Els polímers com la poli(N-isopropil acrilamida) o PIPAM, amb un punt de tèrbol de 32 °C en aigua, s'han utilitzat com a materials termosensibles (39). Els fàrmacs es poden incorporar al nucli intern, que està constituït per polímers hidrofòbics; per exemple, l'àcid poli(D,L-làctic) o PLA. Per induir la cessió del fàrmac, s'ajusta la temperatura al lloc del tumor a 40 °C mitjançant estímuls externs, com pot ser un camp magnètic, radiació o ones ultrasòniques continuades (40).

Les micel·les estabilitzades estèricament, formades per fosfolípids de polietilenglicol (PEGilats), s'han proposat com a transportadors segurs i biocompatibles per a l'alliberament de fàrmacs poc solubles en aigua, especialment molècules anticanceroses (41), així com per a la visualització de tumors i estructures internes (42). A més, es poden liofilitzar sense lioprotectors addicionals i reconstituir sense variacions significatives en les seves propietats (41, 43).

4.2.2. Microemulsions

Les microemulsions són solucions col·loïdals transparents, isòtropes, termodinàmicament estables, constituïdes per solvents polars i no polars, gràcies a la presència de tensioactius amb un HLB adequat (44, 45). La denominació de *microemulsió* va ser introduïda per Schulman i els seus col·laboradors (46, 47). Malgrat el seu nom, les microemulsions no són emulsions, sinó solucions col·loïdals, i la mida característica no és de l'ordre de micròmetres sinó de nanòmetres, entre 5 i 100 nm. Una diferència fonamental entre les emulsions i les microemulsions és que les emulsions, encara que puguin tenir una elevada estabilitat cinètica, són termodinàmicament inestables i se separen en fases (48), mentre que les microemulsions són termodinàmicament estables. Aquesta estabilitat termodinàmica assegura l'exactitud en la dosificació, especialment quan cal administrar petites quantitats de medicament. Una altra diferència amb les emulsions és la formació espontània de les microemulsions, sense aportació d'energia, la qual cosa presenta implicacions econòmiques evidents des del punt de vista de la fabricació industrial.

El disseny i el desenvolupament de nous sistemes d'alliberament de fàrmacs per millorar l'eficàcia de fàrmacs amb activitat farmacològica demostrada tenen un paper molt important en la recerca farmacèutica. Moltes vegades, l'eficàcia del fàrmac està limitada per la baixa solubilitat en aigua. Altres vegades, els efectes secundaris són resultat d'una baixa solubilitat. L'augment de la solubilitat per millorar l'eficàcia terapèutica permet la reducció de la dosi necessària i pot disminuir els efectes secundaris (49). Les microemulsions, a causa de les seves propietats específiques, es poden considerar formes de dosificació molt adequades per resoldre problemes de solubilitat (50).

Les microemulsions s'han desenvolupat com a sistemes terapèutics per l'alliberament controlat de fàrmacs per via cutània, transdèrmica, oral, rectal i parenteral (50-52). Es poden utilitzar per administrar una combinació de fàrmacs de diferent solubilitat o per preparar formes de dosificació de fàrmacs amb baixa biodisponibilitat per inestabilitat química o baixa hidrosolubilitat (53).

La caracterització de les microemulsions requereix el coneixement de diverses tècniques físiques complexes, com ara l'espectroscòpia de correlació de fotons (*light scattering*), la dispersió de raigs X a angle petit, la dispersió de neutrons, la microscòpia electrònica, etc. Cada tècnica contribueix al coneixement de la nanoestructura de la microemulsió; amb tot, la interpretació dels resultats obtinguts és difícil quan hi ha fortes interaccions entre partícules, especialment en sistemes amb una elevada fracció en volum de partícules. La complexitat de la caracterització, l'elevat cost d'aquestes tècniques i en alguns casos l'elevada concentració de tensioactiu són la causa de les dificultats en l'aplicació industrial de les microemulsions (50). No obstant això, les microemulsions representen una alternativa a formulacions convencionals i són potencials nanotransportadors col·loïdals per la vectorització de fàrmacs a llocs específics. L'optimització de la formulació de microemulsions, facilitada per l'estudi del comportament fàsic, i la selecció de tensioactius adequats a les diferents vies d'administració constitueixen alguns dels principals reptes que cal superar en els propers anys.

4.2.3. Nano-emulsions

Les nano-emulsions són emulsions amb una mida de gota molt petita i uniforme, generalment, en l'interval comprès entre els 20 i els 200 nm (54). La seva mida característica fa que tinguin una elevada estabilitat cinètica (enfront de la sedimentació o el cremat) i els confereix un aspecte transparent o translúcid. Es denominen de diferents maneres a la bibliografia: *emulsions submicromètriques* (55-57), *miniemulsions* (58), *emulsions ultrafines* o *nanoemulsions* (59). L'aspecte transparent de les nano-emulsions, juntament amb la baixa viscositat, fa que se les relacioni amb les microemulsions. Les nano-emulsions són sistemes termodinàmicament inestables, tot i tenir una elevada estabilitat cinètica, i per tant requereixen aportació d'energia per a la seva formació (60).

Les nano-emulsions —a causa de la seva transparència òptica, el

seu petit diàmetre de gota, la possibilitat de formar-se amb baixes concentracions de tensioactiu (en relació amb les microemulsions), l'elevada estabilitat cinètica i la possibilitat de controlar la mida de gota— presenten nombroses aplicacions en la indústria farmacèutica. La influència de la composició i dels mètodes de preparació en el diàmetre de les gotes i l'estabilitat de les nano-emulsions ha estat àmpliament estudiada (61-69), així com la influència de la solubilització de fàrmacs (70, 71). Es poden utilitzar com a sistemes d'alliberament de fàrmacs per diverses vies: parenteral, oral, cutània, transdèrmica, oftàlmica, rectal i nasal. La solubilització de principis actius en les gotes de nano-emulsió presenta els avantatges següents: estabilització dels principis actius susceptibles de ser hidrolitzats i disminució dels efectes adversos, ja que permeten l'alliberació controlada del fàrmac i la vectorització selectiva cap al lloc d'acció (72). Els darrers anys, s'estan desenvolupant nombrosos estudis sobre la utilització de nano-emulsions com a vectors no virals per a l'alliberació d'antiretrovirals (73), vacunes (74, 75) i plàsmids (76-78). Altres avenços rellevants consisteixen en la formulació de nano-emulsions magnètiques (79) per al tractament del càncer de pell.

Tanmateix s'utilitzen les nano-emulsions per obtenir nanopartícules polimèriques (80-82) i lipídiques (82, 83). En la majoria d'aquests estudis, la fase dispersa està constituïda per un monòmer que polimeritza en presència d'un catalitzador. El fet que la polimerització s'esdevingui a l'interior de les gotes de nano-emulsions afavoreix el manteniment del diàmetre d'aquestes durant la formació de les partícules de tal manera que cada gota es comportarà com un nanoreactor.

4.2.4. Emulsions altament concentrades

Les emulsions en les quals la fracció en volum de la fase interna és superior a 0,74 —valor corresponent a l'empaquetament compacte d'esferes d'igual radi— es coneixen com a emulsions altament concentrades o EAC (84, 85). També s'anomenen HIPRE, sigla que prové de l'anglès *high internal phase ratio emulsions* (86), emulsions gel (87) o *aphrons* (88). Aquestes emulsions presenten unes propietats estructurals, reològiques i òptiques característiques. A causa de l'elevat contingut en fase interna, les gotes adopten una forma polièdrica i estan envoltades per una pel·lícula molt fina de fase contínua que alhora pot tenir una nanoestructura, per exemple

microemulsió o fases de cristall líquid (89-93). En funció de la fracció en volum de fase dispersa, temperatura, etc., les emulsions altament concentrades mostren des d'un comportament elàstic típic d'un sòlid fins a un comportament viscoelàstic, i el seu aspecte pot ser transparent, translúcid o opac (94, 95).

Per la seva estructura, l'aplicació més important de les emulsions altament concentrades, és com a vehicles per a l'alliberació controlada de principis actius hidrofílics i lipofílics; s'ha estudiat la influència de les variables de composició (95-99), de les característiques del principi actiu i de la nanoestructura de la fase externa (100, 101).

Una altra aplicació és en l'obtenció de materials altament porosos (escumes sòlides) mitjançant reaccions de polimerització (102-104) portades a terme en les fases contínua i dispersa d'aquestes emulsions i que poden utilitzar-se com a motlles per obtenir materials amb porositat dual macroporosa i mesoporosa (105). Els materials porosos obtinguts a partir d'emulsions altament concentrades s'han proposat com a sistemes d'alliberament de fàrmacs i com a implants en medicina regenerativa (106).

Les emulsions altament concentrades s'han utilitzat com a alternativa als medis de reacció basats en solvents orgànics en reaccions (algunes catalitzades per enzims) en les quals estan implicats reactius de polaritat molt diferent (107-109).

4.2.5. Liposomes

Els liposomes són petites vesícules artificials de forma globular formades per porus aquosos encapsulats per una bicapa de fosfolípids amfifílics i colesterol. Són molt utilitzats a causa de la seva mida, de les propietats hidrofíliques i hidrofòbiques i de la biocompatibilitat amb els teixits (110). Depenent de la mida i el nombre de bicapes fosfolipídiques, els liposomes es poden classificar en petites vesícules unilaminars (SUV; una única capa lipídica de 25 a 50 nm de diàmetre), grans vesícules unilaminars (LUV; grup de vesícules heterogeni), i vesícules multilaminars (MLV; diverses capes lipídiques separades una de l'altra per una capa de solució aquosa) (111).

S'han fet diverses investigacions sobre els liposomes en relació amb l'alliberament de vacunes, toxoides, gens, fàrmacs anticancerosos i

anti-HIV. El seu temps de circulació a la sang es pot incrementar mitjançant modificacions a la superfície, per exemple afegint PEG (112), dextrà (113) o polivinilpirrolidona (114) a la bicapa lipídica. A més, la conjugació amb lligands diana, com ara anticossos monoclonals o aptàmers, pot augmentar la seva especificitat tissular (111).

4.2.6. Nanopartícules polimèriques

Els nanosistemes terapèutics nanoparticulats típicament consisteixen en materials macromoleculars amb el principi actiu dissolt en una matriu polimèrica, retingut en un lípid, encapsulat o adsorbit sobre la superfície de partícules. Segons això, es poden classificar principalment en dos tipus: nanocàpsules i nanoesferes. Les primeres són sistemes vesiculars en els quals les molècules de fàrmac estan envoltades per una membrana, mentre que les nanoesferes són sistemes matricials amb les molècules de fàrmac dispersades en tot el volum de la nanopartícula.

Les nanopartícules polimèriques es preparen des d'un polímer ramificat sintètic per augmentar la semivida plasmàtica i reduir la captació fagocítica i la inactivació de la fracció terapèutica i es poden usar per alliberar i vectoritzar agents terapèutics. Es formulen incorporant polímers biodegradables per maximitzar la compatibilitat tissular i minimitzar la citotoxicitat (20). Els polímers aprovats per la *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) per ser administrats en éssers humans són l'àcid polilàctic (PLA), l'àcid poliglicòdic (PGA), l'àcid polilàctic-poliglicòdic (PLGA), la poli-ε-caprolactona i el polimetil metacrilat (111). Per exemple, el PLA i el PLGA poden ser hidrolitzats fàcilment en els monòmers individuals (àcid làctic o àcid glicòdic), que s'eliminen de l'organisme per les vies metabòliques normals (19).

Els mètodes de preparació de nanopartícules polimèriques es poden classificar en dos grans grups: d'una banda, els mètodes de polimerització de monòmers —per exemple, polimerització en emulsió i dispersió— i, de l'altra, altres mètodes que essencialment suposen la dispersió de polímers —per exemple, *salting out*, emulsificació-difusió i nanoprecipitació (115). Les publicacions mostren com s'aconsegueix un major rendiment d'encapsulació en nanopartícules polimèriques quan s'incorpora el fàrmac durant la preparació, i un menor rendiment quan s'adsorbeix en nanopartícules preformades (116). L'alliberament del fàrmac té lloc a causa de la simultània biodegradació seguida per desorció, difusió o erosió (117).

Una variació de les nanopartícules polimèriques, les bionanocàpsules, són nanopartícules buides amb un diàmetre aproximat de 100 nm. Estan formades per unes proteïnes de membrana que les fan capaces d'unir-se a receptors específics (118, 119). Les bionanocàpsules es poden fabricar en grans quantitats i purificar-se a partir de cèl·lules de llevats recombinants i presenten una gran habilitat per alliberar selectivament fàrmacs i gens encapsulats a cèl·lules hepàtiques humanes, tant *ex vivo* com *in vivo* (120-122).

Diversos agents terapèutics, com ara fàrmacs anticancerosos, pèptids i proteïnes, vacunes, etc., poden ser administrats i vectoritzats eficaçment mitjançant nanopartícules polimèriques. La insulina, un tractament d'elecció per a la diabetis de tipus 1 i moltes diabetis de tipus 2, pateix una extensa degradació enzimàtica quan s'administra per via oral. Les nanopartícules polimèriques biodegradables i biocompatibles d'insulina s'han desenvolupat per protegir-la de la seva degradació i facilitar-ne la captació a través de l'epiteli intestinal per les vies paracel·lular o transcel·lular. Hi ha patents americanes basades en l'alliberament d'insulina per via oral utilitzant aquest nanotransportador que s'han provat amb èxit en models animals i s'estan utilitzant en éssers humans (123). La biodisponibilitat d'altres proteïnes i pèptids es pot incrementar utilitzant polímers mucocohesiús adients (124, 125).

4.2.7. Nanopartícules sòlides lipídiques

Les nanopartícules sòlides lipídiques són sistemes transportadors col·loïdals relativament estables en què el lípid fos es dispersa en una solució aquosa de tensioactiu mitjançant homogeneïtzació d'alta pressió o microemulsificació (126). Generalment estan formades per un nucli sòlid hidròfob que conté el fàrmac dissolt o dispersat (127). Les nanopartícules sòlides lipídiques presenten alguns avantatges potencials en relació amb les nanopartícules polimèriques. La seva captació al cervell és més segura i presenten menys toxicitat a causa de la natura biodegradable dels transportador lipídic (128). Les seves petites dimensions (100-200 nm aproximadament) els permeten creuar les estretes separacions entre les cèl·lules endotelials de la barrera hematoencefàlica (BBB), evitar el sistema reticuloendotelial (RES) i evitar el fetge. Presenten una eficiència d'encapsulació relativament elevada, mantenen el fàrmac més estable en la matriu lipídica i proporcionen un alliberament controlat

que pot durar fins a unes quantes setmanes. La seva fabricació es pot escalar amb una excel·lent reproductibilitat. El recobriment superficial de les nanopartícules sòlides lipídiques amb tensioactius o polímers hidròfils, com ara el polietilenglicol (PEG), redueix la captació per part de les cèl·lules hepàtiques i així millora la biodisponibilitat (129).

4.2.8. Nanopartícules magnètiques

Els sistemes nanoparticulats d'alliberament de fàrmacs vectoritzats magnèticament uneixen el fàrmac a nanopartícules magnètiques, com ara ferro oxidat (Fe) o magnetita. Gràcies a la seva mida controlada (entre 10 i 100 nm) i la capacitat d'alliberar el fàrmac o el radionucleòtid al voltant del lloc diana, proporcionen una bona oportunitat en l'alliberament de fàrmacs (130). Per a aplicacions biomèdiques, els transportadors magnètics han d'estar en medi aquós i ser biocompatibles, no tòxics i no immunogènics. Diversos transportadors magnètics, que reben camp magnètic extern, inclouen níquel, cobalt, ferro i òxids de ferro com la magnetita. Els òxids de ferro són els que s'utilitzen més freqüentment per la seva natura biodegradable, biocompatibilitat, efectes paramagnètics i capacitat per servir com a agent de contrast en imatges de ressonància magnètica (MRI). Les partícules d'òxid de ferro són fagocitades o captades per endocitosi per les cèl·lules de Kupffer al sistema reticuloendotelial (RES) del fetge, melsa, limfa i medul·la òssia. Quan es troben compartimentalitzades als lisosomes de les cèl·lules del RES, donen lloc a ferritina i/o hemosiderina, que són formes anti-ferromagnètiques del ferro (131).

La concentració de transportadors en una localització específica es pot manipular calculant la velocitat del flux capil·lar, la permeabilitat vascular i les condicions hidrodinàmiques de l'individu (132). Per l'efecte terapèutic, les nanopartícules magnètiques s'injecten a la sang, i es genera un camp magnètic amb un elevat gradient des de fora de l'organisme per tal de treure-les de la suspensió i alliberar el fàrmac en un lloc localitzat (133). El recobriment amb dextrà o PEG millora la dispersabilitat en aigua (134).

Un tumor cerebral amb una localització intracranial profunda representa un repte per als mètodes convencionals de quimioteràpia. Les nanopartícules magnètiques es poden acumular amb èxit al

lloc del tumor utilitzant un camp magnètic aplicat des de l'exterior. Els transportadors radiomarcats vectoritzats magnèticament s'han desenvolupat per localitzar la radioteràpia al lloc del tumor i minimitzar l'exposició als teixits sans del voltant (135, 136). També és possible el marcatge de cèl·lules específiques conjugant les nanopartícules magnètiques amb anticossos radiomarcats. L'eficàcia del marcatge radioactiu es pot incrementar fins al 90 % utilitzant agents protectors, com ara el clorur d'estany i l'àcid cítric (137).

El nanomagnetosol proporciona una nova proposta de vectorització de fàrmacs al pulmó amb aerosols que contenen nanopartícules magnètiques associades al fàrmac d'elecció. La proposta dona un tractament eficaç al càncer de pulmó i a altres malalties infeccioses pulmonars. Es mesura la deposició del fàrmac sense i amb camp magnètic produït a través de les vies aèries per determinar la magnitud de l'augment de la deposició a causa de l'alineament magnètic de les partícules (138, 139). Els vectors de gens també es poden associar amb nanopartícules magnètiques en gotes d'aerosol perquè es puguin alliberar selectivament a regions pulmonars específiques (140).

S'han fet nombrosos experiments preclínic amb nanopartícules magnètiques per determinar-ne la tolerància i l'eficàcia (141-143).

4.2.9. Nanopartícules metàl·liques i inorgàniques

S'han emprat diversos metalls, com per exemple l'or (Au), el coure (Cu) i la plata (Ag), així com transportadors inorgànics, com ara la sílice o l'alúmina, per a la preparació de nanopartícules, entre les quals les d'or destaquen per ser les més ràpidament utilitzades a causa de les seves excel·lents propietats òptiques i fotoelèctriques. A més, l'or presenta alguns avantatges específics, com el fet de ser inert i atòxic, l'elevada estabilitat, la facilitat de preparació, la possibilitat de bioconjugació i biomodificació amb tiol, disulfid i grups funcionals amino (144, 145). La seva estabilitat en dispersió es pot augmentar per conjugació amb PEG tiolat (146). Les nanopartícules d'or són agents de contrast altament eficaços en la diagnosi del càncer i en la teràpia fotodèrmica del càncer (144). A més, serveixen com a bons vectors pels oligonucleòtids (128), RNA petits d'interferència (siRNA) tiol-conjugats (147), insulina (148) i alliberament de gens (145).

La sílice mesoporosa s'ha utilitzat com a vector a causa de la seva elevada eficàcia d'encapsulació, les seves propietats estructurals controlades i la seva biocompatibilitat (149, 150).

4.2.10. Punts quàntics

Els punts quàntics (*quantum dots*, QD) són nanocristalls semiconductors col·loïdals (de 2 a 10 nm), formats per àtoms dels grups II-VI o III-V de la taula periòdica, que tenen unes propietats òptiques i fluorescents úniques. Els més utilitzats són els de seleniür de cadmi (CdSe), tel·lurit de cadmi (CdTe) i arseniür d'indi (InAs) (151). Quan interaccionen amb fotons, s'exciten i emeten energia a les regions de l'ultraviolat, visible o infraroig proper, que pot ser detectada. A causa de la seva mida petita, es poden utilitzar per al marcatge de macromolècules biològiques, com ara nucleòsids i proteïnes. Entre els diferents elements, els QD de seleniür de cadmi-sulfur de zinc recoberts d'àcid dihidrolipoic presenten una intensitat fluorescent més estable i una fotoestabilitat més elevada (152).

Per incrementar-ne la solubilitat en aigua i la fotoestabilitat, s'han utilitzat diverses tècniques de modificació de superfície; per exemple, recobrir la superfície amb PEG tiolat, afegir lligands, utilitzar dendrímers, etc. (153). L'ús continuat de QD sota certes condicions, com per exemple l'elevada exposició a la radiació o oxidació ultraviolada, poden produir la fuga d'ions cadmi citotòxics des dels QD de CdSe, de manera que es generen radicals lliures oxidants que poden ser letals per a les cèl·lules hepàtiques i renals (154). La citotoxicitat provocada pels QD depèn de la dosi, del tipus de material de recobriment o de la química de la superfície de la cèl·lula (155). Una publicació recent postula que el cadmi pot induir mort cel·lular i hepatotoxicitat a causa de les espècies d'oxigen reactiu (ROS), que produeixen apoptosi a les cèl·lules HepG2 depenent de la dosi, tal com es confirma per l'anàlisi de la fragmentació del DNA (156). Per disminuir-ne la toxicitat, els QD s'encapsulen amb sulfur de Zn (ZnS) i albúmina sèrica humana (BSA), que proporciona una protecció superficial als QD (151).

Els QD conjugats amb anticossos o marcadors específics cel·lulars permeten detectar dianes moleculars múltiples en petites regions tumorals i és per això que es poden preparar pautes de tractament

(157, 158). Els nanocristalls semiconductors col·loïdals luminescents que contenen QD de CdSe-ZnS (nucli-coberta) o fluoròfors inorgànics s'utilitzen sovint per a fluoroimmunoassaig (159).

4.3. Vectorització mitjançant nanosistemes terapèutics

Els agents quimioterapèutics s'han utilitzat extensament en oncologia durant els darrers 25 anys, però tenen poca especificitat per als tumors i presenten toxicitat, la qual cosa en limita la dosificació. Per superar aquestes mancances, s'han intentat desenvolupar vehicles d'alliberament nanoscòpics que poden arribar directament a la cèl·lula cancerosa, alliberar el fàrmac amb una velocitat controlada i potenciar-ne l'activitat terapèutica (160).

La major part dels tumors presenten alguna característica fisiopatològica única, com ara una elevada permeabilitat vascular o extensa angiogènesi —anomenat efecte EPR, (*enhanced permeability and retention*)— que facilita la captació passiva dels nanotransportadors (161). Les nanopartícules es poden conjugar amb diversos transportadors terapèutics intel·ligents com per exemple els aptàmers (162), els dendrímers (163), els anticossos monoclonals (164), la integrina (165), el folat (166), etc., per millorar-ne l'eficàcia i disminuir-ne la toxicitat sistèmica.

4.3.1. Vectorització basada en el receptor de folat

L'àcid fòlic, una forma oxidada del folat, és una vitamina necessària per a reaccions de transferència de carboni i és essencial per a la biosíntesi *de novo* del DNA i diverses bases nucleotídiques (167). El transport de folat a través de la membrana al plasma en cèl·lules normals té lloc mitjançant el transportador de folat o el receptor de folat (168). El receptor de folat és un marcador tumoral altament selectiu, que està sobreexpressat (de 100 a 300 vegades més que en teixits normals) en nombroses cèl·lules canceroses humanes, com les del cervell, ronyó, mama i pulmons (169). D'aquesta manera, la vectorització basada en lligands folat presenta potencials aplicacions en la diagnòsi i l'alliberament d'agents quimioterapèutics (165). El fet que tingui una elevada afinitat pel receptor i una interacció restringida amb teixits normals afavoreix l'alliberament d'agents terapèutics selectivament al lloc diana (166, 170-172).

4.3.2. Vectorització basada en anticossos monoclonals

Els anticossos monoclonals són anticossos monoespecífics que s'obtenen d'un únic clon d'una cèl·lula mare del sistema immunitari. Són proteïnes complexes formades per immunoglobulina G, que conté principalment dues regions, el fragment que s'uneix a l'antigen (Fab) i el fragment fixador del complement (Fc), responsables de la unió específica a l'antigen i la fixació del complement per una resposta biològica *in vivo*, respectivament (164). Els tumors primaris així com els metastàtics generalment sobreexpressen alguns antigens a la seva superfície (com per exemple HER2 en el càncer de mama, el receptor del factor de creixement epidèrmic al limfoma). D'aquesta manera, els anticossos monoclonals específics d'antigens determinats constitueixen una bona plataforma per conjuguar fàrmacs per ser alliberats. Kohler i Milstein van preparar per primera vegada anticossos monoclonals que contenen antigens altament específics i vectoritzats (173). La recerca actual s'orienta cap al desenvolupament de derivats quimèrics i completament humanitzats per disminuir la seva immunogènecitat (160, 174-177).

4.3.3. Vectorització basada en aptàmers

La identificació de proteïnes diana que tenen relació directa amb trastorns oncològics humans ofereix una eina poderosa per al desenvolupament de lligands aptàmers rellevants, que poden ser dirigits selectivament a l'àrea afectada. Els aptàmers, un tipus de macromolècules que contenen una cadena única d'RNA o DNA (sRNA o sDNA), es poden seleccionar de col·leccions aleatòries, basant-se en la seva afinitat per unir-se a un antigen (178). Un grup d'investigadors han proposat una selecció automàtica per un ràpid aïllament de lligands RNA i aptàmers (179). El mètode millora la vectorització dels conjugats nanopartícula-aptàmer a les cèl·lules afectades així com l'alliberament intracel·lular de les nanopartícules (180). Presenten nombroses característiques interessants com ara la facilitat d'aïllament químic, l'afinitat per unir-se selectivament, la mida petita i l'absència d'immunogènecitat, cosa que les fa molt adequades per a la teràpia del càncer (181). Els aptàmers es poden modificar superficialment mitjançant diversos grups funcionals per afavorir la seva conjugació amb els nanomaterials, i això es podria utilitzar per a la vectorització selectiva i la diagnòsi en la teràpia del càncer (162, 182). La recerca s'està focalitzant cap al

desenvolupament d'aptàmers que es puguin unir selectivament al factor de creixement endotelial vascular (VEGF), una proteïna relacionada amb l'angiogènesi. Seria especialment útil per al tractament de la degeneració macular relacionada amb l'edat (183).

4.3.4. Vectorització basada en dendrímers

Els dendrímers són macromolècules polimèriques molt ramificades, monodisperses i distribuïdes uniformement, amb propietats d'encapsulació úniques (163). Presenten un nucli hidròfob i una superfície hidròfila; per això, els fàrmacs es poden situar a l'interior o a la superfície segons quina sigui la seva solubilitat (184). Es poden conjugar fàcilment amb agents per vectoritzar o per captar imatges per la seva forma molt asimètrica, per l'interior ramificat i per la seva superfície arboriforme i multifuncional. Entre els diferents polímers dendrítics, els polímers poliamidoamina (PAMAM) són els més utilitzats per conjugar-los amb agents quimioterapèutics. Es poden sintetitzar per l'addició repetitiva d'unitats de ramificació a un nucli aminat (amoni o etilendiamina) mitjançant un mètode divergent o convergent. El primer suposa el creixement d'un dendró (unitat elemental del dendrímer) des del nucli intern cap a la superfície, mentre que en el segon mètode el dendró s'origina a la superfície molecular i va cap al nucli central (151). Recentment s'han descrit dendrímers multifuncionals PAMAM amb un agent per imatges (isotiocianat de fluoresceïna, FITC), conjugat amb biotina o àcid fòlic com a lligand del vector i un agent terapèutic (taxol) per utilitzar simultàniament en diagnòsi i teràpia (185).

A causa de les favorables característiques d'unió dels dendrímers, s'han descrit recentment com a bons transportadors de diversos agents terapèutics (186, 187). En altres tractaments, diferents al càncer, també s'han utilitzat els dendrímers: per a l'alliberament controlat de pilocarpina per via ocular (188) i com a vehicle en la teràpia gènica (189).

4.3.5. Vectorització basada en integrines

Les integrines es van caracteritzar inicialment com una família de receptors d'adhesió cel·lular que s'unien a la matriu extracel·lular i lligands de la superfície cel·lular. La funció d'una integrina de la superfície cel·lular és transmetre i detectar canvis des de la matriu

extracel·lular a senyals intracel·lulars i d'aquesta manera regular el creixement de tumors, angiogènesi, proliferació, apoptosi o metastàsis (190). Algunes integrines tenen un paper important ja que promouen angiogènesi i metastàsis tumorals. A la família d'integrines $\alpha_v\beta_3$, el receptor d'adhesió és el marcador de vasos sanguinis angiogènics al sistema mamífer i està sobreexpressat en cèl·lules endotelials activades pel factor de creixement. Un pèptid sintètic amb la seqüència específica Arg-Gly-Asp s'uneix a la integrina $\alpha_v\beta_3$ i inhibeix el creixement del tumor i la proliferació. Per això, la vectorització selectiva de la integrina $\alpha_v\beta_3$ i VEGF és una nova estratègia antiangiogènesi per al tractament de tumors sòlids (191).

4.3.6. Vectorització basada en el receptor del pèptid intestinal vasoactiu

El pèptid intestinal vasoactiu (VIP) és un neuropèptid de 28 aminoàcids de la categoria glucagó-secretina que està àmpliament distribuït pel sistema nerviós central i perifèric. Els receptors VIP són cinc vegades més nombrosos en les cèl·lules del càncer de mama que en cèl·lules normals. A més, el VIP se sintetitza localment als ulls i pren part en l'homeòstasi immunològica del microambient ocular. No obstant això, les seves potencials aplicacions terapèutiques estan restringides per la seva dificultat per travessar la barrera hematoencefàlica (BBB) i la ràpida eliminació i degradació (semivida inferior a 1 minut) després que s'hagi administrat per via intravenosa. Per això, s'han estudiat diverses possibilitats per formular-lo i vectoritzar-lo, per protegir-ne la degradació i fer-lo disponible en la seva forma intacta, principalment per la via nasal cap al cervell (192, 193). La vectorització de liposomes amb PEG que contenen radionuclis als receptors VIP d'un tumor van produir una inhibició activa i passiva del càncer de mama en rates (194). Una formulació de liposomes de VIP ha tingut uns resultats prometedors per tractar la inflamació ocular (195). El VIP també podria resultar interessant per al tractament de diversos trastorns neurològics com ara la malaltia d'Alzheimer.

5. Requeriments de la Nanotecnologia farmacèutica per ser acceptada per la indústria farmacèutica

És important preguntar-se si la nanotecnologia realment pot proporcionar sistemes d'alliberament de fàrmacs clínicament útils. La resposta és afirmativa, però la pregunta més apropiada és: quan? Teòricament això ja hauria d'haver succeït, ja que els científics que preparen nanodispositius podrien haver-se associat amb científics fortament involucrats en sistemes d'alliberament de fàrmacs per fabricar industrialment nano- i microformulacions amb utilitat clínica. No obstant això, aquesta situació no s'ha produït encara.

Perquè els sistemes d'alliberament de fàrmacs tinguin utilitat clínica s'ha de complir la condició d'alliberar una determinada quantitat de fàrmac que sigui terapèuticament eficaç i, sovint, durant un extens període de temps. Aquests requeriments es poden donar als microsistemes d'alliberament de fàrmacs fabricats industrialment mitjançant nanotecnologia. Per explicar què pot fer la nanotecnologia per preparar industrialment nano- i microsistemes d'alliberament de fàrmacs, es pot recórrer per exemple a la fabricació industrial de nano- i micropartícules. Els mètodes actuals per preparar-les es basen principalment en la formació d'emulsions o l'intercanvi de solvents (196). Els principals problemes que presenten els mètodes actuals són la baixa capacitat d'incorporar fàrmac, la baixa eficiència d'encapsulació i les dificultats per controlar la distribució de mida. Utilitzant nanotecnologies, com en el cas de la preparació de nanoplantilles, es podria aconseguir la fabricació industrial de nano- i micropartícules amb una elevada eficiència d'encapsulació i mides de partícula molt homogènies.

El futur dels sistemes d'alliberament de fàrmacs basats en la nanotecnologia depèn de la capacitat d'escalar la producció per micro- o nanofabricació industrial. Això requereix el disseny de sistemes d'alliberament com més simples millor, cosa que només podrà ser possible a través d'una estreta comunicació entre enginyers de nanofabricació i científics d'alliberament de fàrmacs. La nanotecnologia per a l'alliberament de fàrmacs madurarà més ràpidament i arribarà a ser més útil si es considera que el potencial real de la nanotecnologia en l'alliberament de fàrmacs es basa en la utilització de la nano- i microfabricació a nivell industrial més que a obtenir un sistema d'alliberament en la nano- i microescala.

En el futur immediat, els nanosistemes terapèutics i la recerca farmacèutica tenen el potencial per contribuir significativament a fer avançar la nanomedicina. Els temes clau d'investigació són: 1) els vectors que superen les barreres biològiques per a l'alliberament de gens de manera eficaç, 2) la vectorització d'anticancerosos, 3) l'alliberament cerebral i 4) la combinació del potencial de la vectorització amb anticossos amb la tecnologia de nanopartícules i liposomes. Aquests objectius es poden aconseguir amb certa rapidesa amb una bona interacció entre la indústria i les universitats i els centres de recerca, un augment de les inversions en recerca i desenvolupament translacional, i la construcció sobre èxits aconseguits. En el moment actual encara hi ha mancances en la comunicació entre químics, físics, farmacèutics, biòlegs i metges (7). Els experts de diferents disciplines han de superar els límits de llenguatge de les pràctiques tradicionals de les seves respectives àrees d'especialització i treballar conjuntament per convertir les innovacions dels seus laboratoris en productes farmacèutics comercialitzables (26). A més, els requeriments reguladors són tan exigents que les indústries són contràries a acceptar el risc de noves tecnologies.

Un dels objectius de la nanomedicina és el replantejament de les empreses de recerca clínica cap a una recerca transversal que afavoreixi la traducció de descobriments bàsics als estudis clínics. L'objectiu d'aplicació primordial dels nanosistemes d'alliberament de fàrmacs és desenvolupar formulacions clínicament útils per al tractament de malalties en pacients. Les aplicacions clíniques requereixen l'aprovació per part de les agències oficials de medicaments (FDA, EMEA, AEMPS, etc.). La indústria farmacèutica ha estat lenta a l'hora d'utilitzar els nous sistemes d'alliberament de fàrmacs si inclouen components (excipients) que no siguin considerats segurs en general. Cal considerar que els estudis clínics perquè l'FDA aprovi una nova entitat química suposen un procés llarg i costós; per tant, hi ha una resistència a la indústria per afegir nous materials que requereixen aconseguir aprovació. Les agències oficials accepten excipients descrits a les farmacopees; en cas contrari, el procés d'aprovació és molt més lent i complex. Per superar l'actitud reticent de la indústria farmacèutica, els científics necessiten desenvolupar nous sistemes d'alliberament de fàrmacs que siguin substancialment millors que els existents. Només un augment marginal en les funcions no farà que valgui la pena la recerca de l'aprovació requerida. La nanotecnologia té el potencial just per augmentar l'eficàcia uns quants ordres de magnitud.

6. Conclusions

Els nanosistemes terapèutics col·loïdals tenen un futur brillant en l'alliberament d'agents terapèutics i de diagnòstic. L'alliberament oral de proteïnes i pèptids, la vectorització en la teràpia del càncer, la visualització de tumors *in vivo*, entre d'altres, poden convertir-se en realitat mitjançant l'ús prudent de la nanotecnologia, que donarà lloc a una millora concomitant del perfil de qualitat, eficàcia i seguretat dels medicaments.

La nanotecnologia té un gran potencial per revolucionar el camp de l'administració de fàrmacs, però desenvolupar aquest potencial requereix esforços harmonitzats entre científics de diferents disciplines, el suport d'organismes en el finançament i la col·laboració de les agències oficials de medicaments.

7. Bibliografia

- 1) Park K. "Nanotechnology: What it can do for drug delivery?" *J Control Release* 2007; 120: 1-3.
- 2) Uskokovic V. "Nanotechnologies: What we do not know". *Technology in Society* 2007; 29: 43-61.
- 3) Wautelet M. "Scaling laws in the macro-, micro- and nanoworlds". *Eur. J. Phys.* 2001; 22: 601-611.
- 4) Taniguchi N. "On the basic concept of nanotechnology". En: *Proceedings of the International Conference on Production Energy Tokyo, Part II. Japan Society of Precision Engineering*, 1974.
- 5) Drexler K.E. "Engines of creation: the coming era of nanotechnology". New York. Anchor, 1986.
- 6) Larsson L.I. "Simultaneous ultrastructural demonstration of multiple peptides in endocrine cells by a novel immunocytochemical method". *Nature* 1979; 282: 743-746.
- 7) European Science Foundation's Forward Look on Nanomedicine 2005. Consensus Conference. Le Bischenberg, 8-10 November 2004.
- 8) Domínguez-Gil A., Martín A. "Avances en Tecnología farmacéutica" en Avendaño C., Tamargo J., eds. "Nuevos Avances en Medicamentos". Instituto de España, Real Academia Nacional de Farmacia. Realigraf, S.A. Madrid, 2004. pags. 57-121.
- 9) Del Pozo Ojeda, A. Discurs de contestació. A Cemeli Pons, J. "Entorno tecnológico del medicamento". Discurs en l'acte de recepció com a acadèmic numerari. Reial Acadèmia de Farmàcia de Barcelona, 7 de maig de 1987.
- 10) Del Pozo Carrascosa A. "Pasado, presente y quizás futuro de la Farmacia Galénica". Discurs de l'acte de recepció com a Acadèmic corresponent. Reial Acadèmia de Farmàcia de Barcelona, 7 de maig de 1992, pàg. 31.

- 11) Vila Jato, J.L. “Etapas estelares de la Farmacia Galénica”. Discurs de l’acte de recepció com a Acadèmic corresponent. Reial Acadèmia de Farmàcia de Barcelona, 19 d’abril de 2010.
- 12) Suñé Negre, J.M. “Concepto de Tecnología farmacéutica industrial: Presente y futuro en el plan de estudios de la carrera de Farmacia”. Discurs de l’acte de recepció com a Acadèmic corresponent. Reial Acadèmia de Farmàcia de Barcelona, 27 de juny de 1991.
- 13) Vila Jato, J.L. “Nanotecnología farmacéutica: Una Galénica emergente”. Discurs d’ingrés com a Acadèmic de Número. Real Academia Nacional de Farmacia. Instituto de España. 9 de marzo de 2006.
- 14) Farokhzad O.C., Langer R. “Impact of Nanotechnology on Drug Delivery” ACS Nano 2009; 3: 16-20.
- 15) Mishra B., Patel B.B., Tiwari S. “Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery”. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine 2010; 6: 9-24.
- 16) Crommelin D.J.A., Park K., Florence A. “Pharmaceutical nanotechnology: Unmet needs in drug delivery” Journal of Controlled Release 2010; 141: 263-264.
- 17) Caruthers S.D., Wickline S.A., Lanza G.M. “Nanotechnological applications in medicine”. Curr Opin Biotechnol 2007; 18: 26-30.
- 18) Ozdemir V., Williams-Jones B., Glatt S.J., Tsuang M.T., Lohr J.B., Reist C. “Shifting emphasis from pharmacogenomics to theragnostics”. Nat Biotechnol 2006; 24: 942-946.
- 19) Alexis F., Rhee J.W., Richie J.P., Radovic-Moreno A.F., Robert Langer R., Farokhzad O.C. “New frontiers in nanotechnology for cancer treatment”. Urol. Oncol. 2008; 26: 74-85.
- 20) Koo O.M., Rubinstein I., Onyuksel H. “Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review”. Nanomedicine 2005; 1: 193-212.

- 21) Lobenberg R. "Smart materials: Applications of nanotechnology in drug delivery and drug targeting". Proceedings of the international conference on MEMS, NANO and Smart Systems (IC-MENS'03), 2003.
- 22) Kingsley J.D., Dou H., Morehead J., Rabinow B., Gendelman H.E., Destache C.J. "Nanotechnology: a focus on nanoparticles as a drug delivery system". *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2006; 1: 340-350.
- 23) La-Van D., McGuire T, Langer R. "Small-scale system for in-vivo drug delivery". *Nat Biotechnol* 2003; 21: 1184-1191.
- 24) Keck C., Kobierski S., Mauludin R., Muller R.H. "Second generation of drug nanocrystals for delivery of poorly soluble drugs: smart crystals technology" *DSOIS* 2008; 24: 124-128.
- 25) Shrivastava S. "Nanofabrication for drug delivery and tissue engineering" *DJNB* 2008; 3: 257-263.
- 26) Sanhai W.R., Sakamoto J.H., Canady R., Ferrari M. "Seven challenges for nanomedicine". *Nature Nanotechnology* 2008; 3: 242-244.
- 27) Bromberg L. "Polymeric micelles in oral chemotherapy". *J Control Release* 2008; 128: 99-112.
- 28) Bae Y., Diezi T.A., Zhao A., Kwon G.S. "Mixed polymeric micelles for combination cancer chemotherapy through the concurrent delivery of multiple chemotherapeutic agents" *J Control Release* 2007; 122: 324-330.
- 29) Gaucher G., Dufresne M.H., Sant V.P., Kang N., Maysinger D., Leroux J.C. "Block copolymer micelles: preparation, characterization and application in drug delivery". *J Control Release* 2005; 109: 169-188.
- 30) Ganta S., Devalapally H., Shahiwala A., Amiji M. "A review of stimuli-responsive nanocarriers for drug and gene delivery". *J Control Release* 2008; 126: 187-204.

- 31) Rapoport N. "Physical stimuli-responsive polymeric micelles for anticancer drug delivery". *Prog Polym Sci* 2007; 32: 962-990.
- 32) Lee E.S., Oh K.T., Kim D., Youn Y.S., Bae Y.H. "Tumor pH-responsive flower-like micelles of poly(L-lactic acid)-b-poly(ethylene glycol)-b-poly(L-histidine)". *J Control Release* 2007; 123: 19-26.
- 33) Lee E.S., Na K., Bae Y.H. "Doxorubicine loaded pH-sensitive polymeric micelles for reversal of resistant MCF-7 tumor". *J Control Release* 2005; 103: 405-418.
- 34) Wang C.H., Hsiue G.H. "Polymeric micelles with a pH-responsive structure as intracellular drug carriers". *J Control Release* 2005; 108: 140-149.
- 35) Hussein G.A., Myrup G.D., Pitt W.G., Christensen D.A., Rapoport N.Y. "Factors affecting acoustically triggered release of drugs from polymeric micelles". *J Control Release* 2000; 69: 43-52.
- 36) Munshi N., Rapoport N., Pitt W.G. "Ultrasonic activated drug delivery from Pluronic P-105 micelles". *Cancer Lett* 1997; 118: 13-19.
- 37) Myhr G., Moan J. "Synergistic and tumour selective effects of chemotherapy and ultrasound treatment". *Cancer Lett* 2006; 232: 206-213.
- 38) Howard B., Gao A., Lee S.W., Seo M., Rapoport N. "Ultrasound enhanced chemotherapy of drug-resistant breast cancer tumors by micellar-encapsulated paclitaxel". *Am J Drug Deliv* 2006; 4: 97-104.
- 39) Nakayama M., Okano T., Miyazaki T., Kohori F., Sakai K., Yokoyama M. "Molecular design of biodegradable polymeric micelles for temperature-responsive drug release". *J Control Release* 2006; 115: 46-56.
- 40) Nakayama M., Chung J.E., Miyazaki T., Yokoyama M., Sakai K., Okano T. "Thermal modulation of intracellular drug distribution using thermo-responsive polymeric micelles". *React Funct Polym* 2007; 67: 1398-1407.

- 41) Koo O.M., Rubinstein I., Onyuksel H. "Camptothecin in sterically stabilized phospholipid micelles: a novel nanomedicine". *Nanomedicine* 2005; 1: 77-84.
- 42) Papagiannaros A., Levehenko T., Hartner W., Mongayt D., Torchilin V. "Quantum dots encapsulated in phospholipid micelles for imaging and quantification of tumors in the near-infrared region". *Nanomedicine* 2009; 5(2): 216-224.
- 43) Cesur H., Rubinstein I., Pai A., Onyukdel H. "Self-associated indisulam in phospholipid-based nanomicelles: a potential nanomedicine for cancer". *Nanomedicine* 2009; 5(2): 178-183.
- 44) Solans C., García-Celma M.J. "Surfactants for microemulsions". *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 1997; 2: 464-471.
- 45) Danielsson I., Lindman B. "The definition of a microemulsion". *Colloids and Surfaces* 1981; 3: 391-392.
- 46) Hoar T.P., Schulman J.H. "Transparent water-in-oil dispersions: the oleopathic hydro-micelle". *Nature* 1943; 152: 102-103.
- 47) Schulman J.H., Stoeckenius W., Prince L.M. "Mechanism of formation and structure of microemulsions by electron microscopy". *J. Phys. Chem.* 1959; 63: 1677-1680.
- 48) Shinoda K., Lindman B. "Organised surfactant systems: microemulsions". *Langmuir* 1987; 3: 135-149.
- 49) Yalkowsky S.H., ed. "Techniques of Solubilization of Drugs". Marcel Dekker. New York, 1981.
- 50) García-Celma M.J. "Solubilization of Drugs in Microemulsions" en "Industrial Applications of Microemulsions" (Solans C., Kunieda H., eds.) Marcel Dekker, New York, 1997.
- 51) Lawrence M.J., Rees G.D. "Microemulsion-based media as novel drug delivery systems". *Advanced Drug Delivery Reviews* 2000; 45: 89-121.

- 52) Kreilgaard M. "Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery" *Advanced Drug Delivery Reviews* 2002; 54 (supl.1): S77-S98.
- 53) Attwood D., in *Colloidal Drug Delivery Systems* (Kreuter J., ed). Marcel Dekker. New York, 1994. pp. 31-71.
- 54) Solans C., Izquierdo P., Nolla J., Azemar N., García-Celma M.J. "Nano-emulsions". *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 2005; 10: 102-110.
- 55) Benita S., Levy M.J. "Submicron emulsions as colloidal drug carriers for intravenous administration: comprehensive physicochemical characterization". *J. Pharm. Sci.* 1993; 82: 1069-1079.
- 56) Lundberg B.B "A submicron lipid emulsion coated with amphipathic polyethylene glycol for parenteral administration of paclitaxel (Taxol)". *J. Pharm. Pharmacol.* 1997; 49: 16-21.
- 57) Sznitowska M., Janicki S., Dabrowska E., Zurowska-Pryczkowska K. "Submicron emulsions as drug carriers. Studies on destabilization potential of various drugs". *Eur. J. Pharm. Sci.* 2001; 12: 175-179.
- 58) El-Aasser M.S., Miller C.M. "Preparation of latexes using miniemulsions" en (J.M. Asua, ed.): "Polymeric dispersions: principles and applications". Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 1997, pàg. 109-126.
- 59) Nakajima H., Tomomasa S., Okabe M. "Preparation of nano-emulsions". *Recueil des resumes. Premier congres mondial de l'emulsion.* Paris 1993, 1: 63.
- 60) Walstra P. "Formation of emulsions" en (P. Becher, ed.): "Encyclopedia of emulsion technology". Marcel Dekker. New York, 1983, v.1, pàg. 57-127.
- 61) Izquierdo P. "Studies on nano-emulsion formation and stability". *Tesi doctoral.* Universitat de Barcelona, 2002.

- 62) Izquierdo P., Esquena J., Tadros Th.F., Dederen C., García M.J., Azemar N., Solans C. "Formation and stability of nano-emulsions prepared using the Phase Inversion Temperature method". *Langmuir* 2002; 18 (1): 26-30.
- 63) Morales D., Gutiérrez J.M., García-Celma M.J., Solans C. "A study of the relation between bicontinuous microemulsions and oil/water nano-emulsion formation". *Langmuir* 2003; 19 (18): 7196-7200.
- 64) Morales D. "Estudi de la formació de nano-emulsions de tipus O/W i la seva aplicació com a medis de preparació de nanopartícules amb aplicacions farmacèutiques". Tesi doctoral. Universitat de Barcelona, 2004.
- 65) Usón N. "Estudi de la formació de nano-emulsions de tipus aigua en oli (W/O)". Tesi doctoral. Universitat de Barcelona, 2004.
- 66) Usón N., García M.J., Solans C. "Formation of water-in-oil (W/O) nano-emulsions in a water/mixed non-ionic surfactant/oil systems prepared by a low-energy emulsification method". *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 2004; 250: 415-421.
- 67) Izquierdo P., Feng J., Esquena J., Tadros Th.F., Dederen J.C., García M.J., Azemar N., Solans C. "The influence of surfactant mixing ratio on nano-emulsion formation by the PIT method". *Journal of Colloid and Interface Science* 2005; 285: 388-394.
- 68) Morales D., Solans C., Gutiérrez J.M., García M.J., Olsson U. "Oil/water droplet formation by temperature change in the water/C₁₆E₆/mineral oil system". *Langmuir* 2006; 22: 3014-3020.
- 69) Izquierdo P., Wiechers J.W., Escribano E., García-Celma M.J., Tadros T.F., Esquena J., Dederen C., Solans C. "A study on the influence of emulsion droplet size on the skin penetration of tetracaine". *Skin Pharmacology and Physiology* 2007; 20: 263-270.
- 70) Sadurní N., Solans C., Azemar N., García-Celma M.J. "Studies on the formation of O/W nano-emulsions, by low-energy emulsification methods, suitable for pharmaceutical applications". *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2005; 26: 438-445.

- 71) Sadurní N. “Estudi de la formació de nano-emulsions de fase externa aquosa i solubilització de fàrmacs lipofílics”. Tesi doctoral. Universitat de Barcelona, 2006.
- 72) Buszello K., Müller B.W. “Emulsions as drug delivery systems” en (F. Nielloud, Martí-Mestres, eds.): “Pharmaceutical emulsions and suspensions”. *Drugs and the Pharmaceutical Sciences* vol. 105. Marcel Dekker. New York, 2000, pàg. 191-228.
- 73) Vyas T.K., Shahiwala A., Amiji M.M. “Improved oral bioavailability and brain transport of Saquinavir upon administration in novel nanoemulsion formulations”. *International Journal of Pharmaceutics* 2008; 347 (1-2): 93-101.
- 74) Bielinska A.U., Janczak K.W., Landers J.L., Makidon P., Sower L.E., Peterson J.W., Baker J.R. “Mucosal immunization with a novel nano-emulsion-based recombinant anthrax protective antigen vaccine protects against *Bacillus anthracis* spore challenge”. *Infection and Immunity* 2007; 4020-4029.
- 75) Huang M.H., Huang Ch.Y., Lin S.Ch., Chen J.H., Ku Ch., Chou A.H., Liu Sh.J., Chen H.W., Chong P., Leng Ch.H. “Enhancement of potent antibody and T-cell responses by a single-dose, novel nano-emulsion-formulated pandemic influenza vaccine”. *Microbes and Infection* 2009; 11: 654-660.
- 76) Trimaille Th., Chaix C., Pichot Ch., Delair Th. “Polymer functionalized submicrometric emulsions as potential synthetic DNA vectors”. *Journal of Colloid and Interface Science* 2003; 258: 135-145.
- 77) Kwon S.M., Nam H.Y., Nam T., Park K., Lee S., Kim K., Kwon I. Ch., Kim J.C., Kang D., Park J.H., Jeong S.Y. “In vivo time-dependent gene expression of cationic-lipid based emulsion as a stable and biocompatible non-viral gene carrier”. *Journal of Controlled Release* 2008; 128: 89-97.
- 78) Liu Ch.H., Yu Sh.Y. “Cationic nanoemulsions as non-viral vectors for plasmid DNA delivery”. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2010; 79: 509-515.

- 79) Primo F.L., Macaroff P.P., Lacava Z.G.M., Azevedo R.B., Moraes P.C., Tedesco A.C. "Binding and photophysical studies of bio-compatible magnetic fluid in biological medium and development of magnetic nanoemulsion: a new candidate for cancer treatment". *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 2007; 310: 2838-2840.
- 80) Antonietti M., Landfester K. "Polyreactions in miniemulsions". *Progress in Polymer Science* 2002; 27: 689-757.
- 81) Asua J.M. "Miniemulsion polymerization". *Progress in Polymer Science* 2002; 27: 1238-1346.
- 82) Anton N., Saulnier P., Gaillard C., Porcher E., Vrignaud S., Benoit J.P. "Aqueous-core lipid nanocapsules for encapsulating fragile hydrophilic and/or lipophilic molecules". *Langmuir* 2009; 25 (9): 11413-11419.
- 83) Huynh N.T., Passirani C., Saulnier P., Benoit J.P. "Lipid nanocapsules: A new platform for nanomedicine". *International Journal of Pharmaceutics* 2009; 379: 201-209.
- 84) Lissant K.J. "The geometry of high-internal-phase ratio emulsions". *Colloid Interface Sci* 1966; 22: 462-468.
- 85) Princen H.M., Kiss A.D. "Osmotic pressure of foams and highly concentrated emulsions. 2. Determination of the variation in volume fraction with height in an equilibrated column". *Langmuir* 1987; 3: 36-41.
- 86) Princen H.M., Kiss A.D. "Rheology of foams and highly concentrated emulsions. III. Static shear modulus". *J Colloid Interface Sci* 1986; 112: 427-437.
- 87) Solans C., Comelles F., Azemar N., Sánchez Leal J., Parra J.L. "Emulsiones gel con elevado contenido en agua: formación y propiedades". *Jorn Com Esp Deterg* 1986; 17: 109-122.
- 88) Kizling J., Kronsberg B. "On the formation and stability of concentrated water-in-oil emulsions, Aphrons". *Colloids and Surfaces* 1990; 50: 131-140.

- 89) Kunieda H., Solans C., Shida N., Parra J.L. "The formation of gel-emulsions in a water/nonionic surfactant/oil system". *Colloids and Surfaces* 1987; 24: 225-237.
- 90) Kunieda H., Tanimoto M., Shigeta K., Rodríguez C. "Highly concentrated cubic-phase emulsions: basic study on D-phase emulsification using isotropic gels". *J. Oleo. Sci.* 2001; 50: 633-640.
- 91) Solans C., Pons R., Zhu S., Davis H.T., Evans D.F., Nakamura K., Kunieda H. "Studies on macro and microstructures of highly water in oil emulsions (gel-emulsions)". *Langmuir* 1993; 9: 1479-1482.
- 92) Solans C., Esquena J., Azemar N., Rodríguez C., Kunieda H. "Highly concentrated (gel) emulsions: formation and properties" en "Emulsions: structure, stability and interactions" (D.N. Petser, ed.). Elsevier (Interface and Technology Series) 2004; 4: 511-555.
- 93) Uddin M.D.H., Kunieda H., Solans C. "Highly concentrated cubic phase-based emulsions" en "Structure-performance relationships in surfactants" (K. Esumi, M. Ueno, eds.) Marcel Dekker, New York, 2003; 70: 599-626.
- 94) Solans C., Domínguez J.G., Parra J.L., Heuser J., Friberg S.E. "Gelled emulsions with a high water content". *Colloid Polymer Sci.* 1988; 266: 570-574.
- 95) Solans C., Carrera N., Pons R., Azemar N. "Gel emulsions: Formulating with highly concentrated W/O emulsions". *Cosmetics & Toiletries* 1993; 108: 61-64.
- 96) Calderó G. "Estudi de difusió en emulsions altament concentrades". *Tesi Doctoral. Universitat de Barcelona*, 1997.
- 97) Calderó G., García-Celma M.J., Solans C., Plaza M., Pons R. "Influence of composition variables on the molecular diffusion from highly concentrated water-in-oil emulsions (gel emulsions)". *Langmuir* 1997; 13: 385-390.
- 98) Calderó G., García-Celma M.J., Solans C., Stebé M.J., Ravey J.C., Rocca S., Pons R. "Diffusion from hydrogenated and fluorinated gel-emulsion mixtures". *Langmuir* 1998; 14: 1580-1585.

- 99) Calderó G., García-Celma M.J., Solans C., Pons R. "Effect of pH on mandelic acid diffusion in water in oil highly concentrated emulsions (gel-emulsions)". *Langmuir* 2000; 16: 1668-1674.
- 100) Calderó G., Llinàs M., García-Celma M.J., Solans C. "Studies on controlled release of hydrophilic drugs from W/O high internal phase ratio emulsions". *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2010; 99: 701-711.
- 101) Llinàs M, "Estudi d'emulsions altament concentrades com a sistemes d'alliberació controlada de principis actius". *Tesi Doctoral. Universitat de Barcelona*, 2010.
- 102) Ruckenstein E., Kim J.J. "Polymerization in gel-like emulsions". *J. Appl. Polym. Sci.* 1988; 36: 907-923.
- 103) Ruckenstein E., Sun F. "A new concentrated emulsion polymerization pathway". *J. Appl. Polym. Sci.* 1992; 46: 1271-1277.
- 104) Esquena J., Sankar R., Solans C. "Highly concentrated W/O emulsions prepared by the PIT method as templates for solid foams". *Langmuir* 2003; 19: 2983-2988.
- 105) Maekawa H., Esquena J., Bishop S., Solans C., Chmelka B.F. "Meso/macroporous inorganic oxide monolith from polymer foams". *Adv. Mater.* 2003; 15: 591-596.
- 106) Canal C., Gaboriau F., Vílchez A., García-Celma M.J., Erra P., Esquena J. "Properties and post-discharge plasma behaviour of meso/macroporous polystyrene solid foams". *Plasma Processes and Polymers* 2009; 6 (10): 686-692.
- 107) Solans C., Pinazo A., Calderó G., Infante M.R. "Highly concentrated emulsions as novel reaction media". *Colloids and surfaces* 2001; 176: 101-108.
- 108) Clapés P., Espelt L., Navarro M.A., Solans C. "Highly concentrated water-in-oil emulsions as novel reaction media for protease-catalysed kinetically controlled peptide synthesis". *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 2001; 2: 1394-1399.

- 109) Espelt L., Clapés P., Esquena J., Manich A., Solans C. “Enzymatic carbon-carbon bond formation in water-in-oil highly concentrated emulsions (gel-emulsions)”. *Langmuir* 2003; 19: 1337-1346.
- 110) Drummond D.C., Meyer O., Hong K., Kirpotin D.B., Papahadjopoulos D. “Optimizing liposomes for delivery of chemotherapeutic agents to solid tumors”. *Pharmacol Rev* 1999; 51: 691-743.
- 111) Sahoo S.K., Labhasetwar V. “Nanotech approaches to drug delivery and imaging” *Drug Discov Today* 2003; 8: 1112-1120.
- 112) Lasic D.D. “Sterically stabilized liposomes in cancer therapy and gene delivery”. *Curr Opin Mol Ther* 1999; 1: 177-185.
- 113) Pain D., Das P.K., Ghosh P.C., Bachhawat B.K. “Increased circulatory half-life of liposomes after conjugation with dextran”. *J Biosci* 1984; 6: 811-816.
- 114) Torchilin V.P., Levchenko T.S., Whiteman K.R., Yaroslavov A.A., Tsatsakis A.M., Rizos A.K. “Amphiphilic poly-N-vinylpyrrolidones: synthesis, properties and liposome surface modification”. *Biomaterials* 2001; 22: 3035-3044.
- 115) Galindo-Rodríguez S., Allemann E., Fessi H., Doelker E. “Physicochemical parameters associated with nanoparticle formation in the salting-out, emulsification-diffusion, and nanoprecipitation methods”. *Pharm Res* 2004; 21:1428-1439.
- 116) Alonso M.J., Losa C., Calvo P., Vila-Jato, J.L. “Approaches to improve the association of amikacin sulphate to poly-(cyanoacrylate) nanoparticles”. *Int J Pharm* 1991; 68: 69-76.
- 117) Soppimath K.S., Aminabhavi T.M., Kulkarni A.R., Rudzinski W.E. “Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices”. *J Control Release* 2001; 70: 1-20.
- 118) Nagaoka T., Fukuda T., Yoshida S., Nishimura H., Yu D., Kuroda S., et al. “Characterization of human hepatocyte carcinoma by disulfide linkage modification”. *J Control Release* 2007; 118: 348-356.

- 119) Tsutsui Y., Tomizawa K., Nagita M., Michiue H., Nishiki T., Ohmori I., et al. "Development of bionanocapsules targeting brain tumors". *J Control Release* 2007; 122: 159-164.
- 120) Sunichi K., Takeshi K., Sunichi K., Joohee J., Katsuyuki T. "Development of bio-nanocapsules and its applications in the biomedical field". *Chem ind* 2006; 57: 869-874.
- 121) Jung J., Matsuzaki T., Tatematsu K., Okajima T., Tanizawa K., Kuroda S. "Bionanocapsule conjugated with liposomes for in vivo pinpoint delivery of various materials". *J Control Release* 2008; 126: 255-264.
- 122) Shishido T., Uiyonezawa D., Iwata K., Tanaka T., Ogino C., Fukuda H., et al. "Construction of arginine-rich peptide displaying bionanocapsules". *Bioorg Med Chem Lett* 2009; 19: 1473-1476.
- 123) Damge C., Maincent P., Ubrich N. "Oral delivery of insulin associated to polymeric nanoparticles in diabetic rats". *J Control Release* 2007; 117: 163-170.
- 124) Krauland A.H., Bernkop-Schnurch A. "Thiomers: development and in vitro evaluation of a peroral microparticulate peptide delivery system". *Eur J Pharm Biopharm* 2004; 57: 181-187.
- 125) Leitner V.M., Marschutz M.K., Bernkop-Schnurch A. "Mucoadhesive and cohesive properties of poly(acrylic acid)-cysteine conjugates with regard to their molecular mass". *Eur J Pharm Sci* 2003; 18: 89-96.
- 126) Mueller R. H., Maeder K., Gohla S. "Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery: a review of the state of the art". *Eur J Pharm Biopharm* 2000; 50: 161-177.
- 127) Kaur I.P., Bhandari R., Bhandari S., Kakkar V. "Potential of solid lipid nanoparticles in brain targeting". *J Control Release* 2008; 127: 97-109.
- 128) Blasi P., Giovagnoli S., Schoubben A., Ricci M., Rossi C. "Solid lipid nanoparticles for targeted brain drug delivery". *Adv Drug Deliv Rev* 2007; 59: 454-477.

- 129) Wissing S.A., Kayser O., Muller R.H. "Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery". *Adv Drug Deliv Rev* 2004; 56: 1257-1272.
- 130) Pankhurst Q.A., Connolly J., Jones S.K., Dobson J. "Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine". *J. Phys D Appl Phys* 2003; 36: 167-181.
- 131) Briley-Saebo K., Bjomerud A., Grant D., Ahlstrom H., Berg T., Kindberg G.M. "Hepatic cellular distribution and degradation of iron oxide nanoparticles following single intravenous injection in rats: implications for magnetic resonance imaging". *Cell Tissue Res* 2004; 316: 315-323.
- 132) Arruebo M., Fernández-Pacheco R., Ibarra M.R., Santamaria J. "Magnetic nanoparticles for drug delivery". *Nano Today* 2007; 2: 22-32.
- 133) Nishijima S., Mishima F., Terada T., Takeda S. "A study on magnetically targeted drug delivery system using superconducting magnet". *Physica C* 2007; 463: 1311-1314.
- 134) Jain T.K., Richey J., Strand M., Leslie-Pelecky D.L., Flask C.A., Labhasetwar V. "Magnetic nanoparticles with dual functional properties: drug delivery and magnetic resonance imaging". *Biomaterials* 2008; 29: 4012-4021.
- 135) Hafeli U., Pauer G., Failing S., Tapolsky G., "Radiolabeling of magnetic particles with rhenium-188 for cancer therapy". *J Magn Magn Mater* 2001; 225: 73-78.
- 136) Ito A., Shinkai M., Honda H., Kobayashi T. "Medical application of functionalized magnetic nanoparticles". *J Biosci Bioeng* 2005; 100: 1-11.
- 137) Chunfu Z., Jinqun C., Duanzhi Y., Yongxian W., Yanlin F., Jiaju T. "Preparation and radiolabeling of human serum albumin (HSA)-coated magnetite nanoparticles for magnetically targeted therapy". *Appl Radiat Isot* 2004; 61: 1255-1259.

- 138) Ally J., Martin B., Khamesee M.B., Roa W., Amirfazli A. "Magnetic targeting of aerosol particles for cancer therapy". *J. Magn Magn Mater* 2005; 293: 442-449.
- 139) Dames P., Gleich B., Flemmer A., Hajek K., Seidl N., Wiekhorst F. "Targeted delivery of magnetic aerosol droplets to the lung". *Nat Nanotechnol* 2007; 2: 495-499.
- 140) Martin A.R., Finlay W.H. "Enhanced deposition of high aspect ratio aerosols in small airway bifurcations using magnetic fields alignment". *Aerosol Sci* 2008; 39: 679-690.
- 141) Alexiou C., Arnold W., Klein R.J., Parak F.G., Hulin P., Bergemann C. et al. "Locoregional cancer treatment with magnetic drug targeting". *Cancer Res* 2000; 60: 41-48.
- 142) Lubbe A.S., Bergemann C., Huhnt W., Fricke T., Riess H., Brock J.W., et al. "Preclinical experiences with magnetic drug targeting: tolerance and efficacy". *Cancer Res* 1996; 56: 4694-4701.
- 143) Alberts D.S., Surwit E.A., Peng Y.M., McCloskey T., Rivest R., Graham V., et al. "Phase I clinical and pharmacokinetic study of motoxantrone given to patients by intraperitoneal administration". *Cancer Res* 1988; 48: 5874-5877.
- 144) Jain P.K., El-Sayed I.H., El-Sayed M.A. "Au nanoparticles target cancer". *Nano Today* 2007; 2: 18-29.
- 145) Ghosh P., Han G., De M., Kim C.K., Rotello V.M. "Gold nanoparticles in delivery applications". *Adv Drug Deliv Rev* 2008; 60: 1278-1288.
- 146) Wuelfing W.P., Gross S.M., Miles D.T., Murray R.W. "Nanometer gold clusters protected by surface-bound mono-layers of thiolated poly(ethylene glycol) polymer electrolyte". *J Am Chem Soc* 1998; 12: 12696-12697.
- 147) Oishi M., Nakaogami J., Ishii T., Nagasaki Y. "Smart PEGylated gold nanoparticles for the cytoplasmic delivery of siRNA to induce enhanced gene silencing". *Chem Lett* 2006; 35: 1046-1047.

- 148) Bhumkar D.R., Joshi H.M., Sastry M., Pokharkar V.B. "Chitosan reduced gold nanoparticles as novel carriers for transmucosal delivery of insulin". *Pharm Res* 2007; 24: 1415-1426.
- 149) Slowing H., Vivero-Escoto J.L., Wu C., Lin V.S. "Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers". *Adv Drug Deliv Rev* 2008; 60: 1278-1288.
- 150) Park C., Oh K., Lee S.C., Kim C. "Controlled release of guest molecules from mesoporous silica particles based on pH-responsive poly-pseudotaraxane motif". *Angew Chem Int Ed* 2007; 46: 1455-1457.
- 151) Bawarski W.E., Chidlowsky E., Bharali D.J., Mousa S.A. "Emerging nanopharmaceuticals". *Nanomedicine* 2008; 4: 273-282.
- 152) Arya H., Kaul Z., Wadhwa R., Taira K., Hirano T., Kaul S.C. "Quantum dots in bio-imaging: revolution by the small". *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 329: 1173-1177.
- 153) Hezinger A.F.E., Tebmar J., Gopferich A. "Polymer coating of quantum dots: a powerful tool toward diagnostics and sensorics". *Eur J Pharm Biopharm* 2008; 68: 138-152.
- 154) Derfus A.M., Chan W.C.W., Bhatia S.N. "Probing the cytotoxicity of semiconductor quantum dots". *Nano Lett* 2004; 4: 11-18.
- 155) Chan W.H., Shiao N.H., Lu P.Z. "CdSe quantum dots induce apoptosis in human neuroblastoma cells via mitochondrial-dependent pathways and inhibition of survival signals". *Toxicol Lett* 2006; 167: 191-200.
- 156) Oh S.H., Lim S.C. "A rapid and transient ROS generation by cadmium triggers apoptosis via caspase-dependent pathway in HepG2 cells and this is inhibited through N-acetylcysteine-mediated catalase upregulation". *Toxicol Appl Pharmacol* 2006; 212: 212-223.
- 157) Yezhelyev M.V., Gao X., Xing Y., Al-Hajj A., Nie S., O'Regan R.M. "Emerging use of nanoparticles in diagnosis and treatment of breast cancer". *Lancet Oncol* 2006; 7: 657-667.

- 158) Wu X., Liu H., Haley K.N., Treadway J.A., Larson J.P., et al. "Immunofluorescent labeling of cancer marker Her2 and other cellular target with semiconductor quantum dots". *Nat Biotechnol* 2002; 21: 41-46.
- 159) Goldman E.R., Anderson G.P., Tran P.T., Mattoussi H., Charles P.T., Mauro J.M. "Conjugation of luminescent quantum dots with antibodies using an engineered adaptor protein to provide new reagents for fluoroimmunoassay". *Anal Chem* 2002; 74: 841-847.
- 160) Gu F.X., Karnik R., Wang A.Z., Alexis F., Levy-Nissenbaum E., Hong S., et al. "Targeted nanoparticles for cancer therapy". *Nano Today* 2007; 2: 14-21.
- 161) Maeda H., Wu J., Sawa T., Matsumura Y., Hori K. "Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review". *J Control Release* 2000; 65: 271-284.
- 162) Farokhzad O.C., Jon S., Khademhosseini A., Tran T.T., Lavan D.A., Langer R. "Nanoparticle-aptamer bioconjugates: a new approach for targeting prostate cancer cells". *Cancer Res* 2004; 64: 7668-7672.
- 163) Bhadra D., Bhadra S., Jain S., Jain N.K. "A PEGylated dendritic nanoparticulate carrier of fluorouracil". *Int J Pharm* 2003; 257: 111-124.
- 164) Mehren M.V., Adams G.P., Weiner L.M. "Monoclonal antibody therapy for cancer". *Annu Rev Med* 2003; 54: 343-369.
- 165) Jin H., Varner J. "Integrins: roles in cancer development and as treatment targets". *Br J Cancer* 2004; 90: 561-565.
- 166) Leamon C.P., Reddy J.A. "Folate-targeted chemotherapy". *Adv Drug Deliv Rev* 2004; 56: 1127-1141.
- 167) Antony A.C. "The biological chemistry of folate receptors". *J Am Soc Hematol* 1992; 79: 2807-2820.
- 168) Lu Y., Low P.S. "Folate-mediated delivery of macromolecular anticancer therapeutic agents". *Adv Drug Deliv Rev* 2002; 54: 675-693.

- 169) Sudimack J.B.A., Lee R.J. "Targeted drug delivery via the folate receptor". *Adv Drug Deliv Rev* 2000; 41: 147-162.
- 170) Rege B.D., Kao J.P.Y., Polli J.E. "Effects of nonionic surfactants on membrane transporters in Caco-2 cell monolayers". *Eur J Pharm Sci* 2002; 16: 237-246.
- 171) Pan J., Feng S.S. "Targeted delivery of paclitaxel using folate-decorated poly(lactide evitamin E TPGS nanoparticles)". *Biomaterials* 2008; 29: 2663-2672.
- 172) Oyewumi M.O., Mumper R.J. "Influence of formulation parameters on gadolinium entrapment and tumor cell uptake using folate-coated nanoparticles". *Int J Pharm* 2003; 251: 85-97.
- 173) Kohler G., Milstein C. "Continuous culture of fused cell secreting antibody of predefined specificity". *Nature* 1975; 256: 495-497.
- 174) Kocbek P., Obermajer N., Cegnar M., Kos J., Kristl J. "Targeting cancer cells using PLGA nanoparticles surface modified with monoclonal antibody". *J Control Release* 2007; 120: 18-26.
- 175) Steinhauser I., Spankuch B., Strebhardt K., Langer K. "Trastuzumab-modified nanoparticles: optimisation of preparation and uptake in cancer cells". *Biomaterials* 2006; 27: 4975-4983.
- 176) Sievers E.L., Larson R.A., Stadtmauer E.A., Estey E. "Efficacy and safety of gemtuzumab ozogamicin in patients with CD33-positive acute myeloid leukemia in first relapse". *J Clin Oncol* 2001; 19: 3244-3254.
- 177) Bross P.F., Beit J., Chen G., Chen X.H., Duffy E., Kieffer L, et al. "Approval summary: gemtuzumab ozogamicin in relapsed acute myeloid leukemia". *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1490-1496.
- 178) Lee J.F., Hesselberth J.R., Meyers L.A., Ellington A.D. "Aptamer database". *Nucleic Acids Res* 2004; 32: 95-100.
- 179) Gold L., Tuerk C. "Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase". *Science* 1990; 249: 505-510.

- 180) Levy-Nissenbaum E., Radovic-Moreno A.F., Wang A.Z., Langer R., Farokhzad O.C. "Nanotechnology and aptamers: applications in drug delivery". *Trends Biotechnol* 2008; 24: 442-449.
- 181) Sampson T. "Aptamers and SELEX: the technology". *World Pat Inf* 2003; 25: 123-129.
- 182) Philips J.A., López-Colón D., Zhu Z., Xu Y., Tan W. "Applications of aptamers in cancer cell biology". *Anal Chim Acta* 2008; 621: 101-108.
- 183) Lee J.F., Stovall G.M., Ellington A.D. "Aptamer therapeutics advance". *Curr Opin Chem Biol* 2006; 10: 282-289.
- 184) Svenson S., Tomalia D.A. "Dendrimers in biomedical applications: reflections on the field". *Adv Drug Deliv Rev* 2005; 57: 2106-2129.
- 185) Yang W., Cheng Y., Xu T., Wang X., Wen L. "Targeting cancer cells with biotin-dendrimer conjugates". *Eur J Med Chem* 2008; 43: 1-7.
- 186) Yiyun C., Tongwen X., Rongqiang F. "Polyamidoamine dendrimers used as solubility enhancers of ketoprofen". *Eur J Med Chem* 2005; 40: 1390-1393.
- 187) Singh B., Florence A.T. "Hydrophobic dendrimer-derived nanoparticles". *Int J Pharm* 2005; 298: 348-353.
- 188) Vandamme T.F., Brobeck L. "Poly(amidoamine) dendrimers as ophthalmic vehicles for ocular delivery of pilocarpine nitrate and tropicamide". *J Control Release* 2005; 102(1): 23-38.
- 189) Dufes C., Uchegbu I.F., Schatzlein A.G. "Dendrimers in gene delivery". *Adv Drug Deliv Rev* 2005; 57: 2177-2202.
- 190) Mousa S.A. "Anti-integrin as novel drug-discovery targets: potential therapeutic and diagnostic implications". *Curr Opin Chem Biol* 2002; 6: 534-541.

- 191) Lim E.H., Danthi T.N., Bednarski M., Li K.C.P. "A review: integrin $\alpha_v\beta_3$ -targeted molecular imaging and therapy in angiogenesis". *Nanomedicine* 2005; 1: 110-114.
- 192) Dufes C., Olivier J., Gaillard F., Gaillard A., Couet W., Muller J. "Brain delivery of vasoactive intestinal peptide (VIP) following nasal administration to rats". *Int J Pharm* 2003; 255: 87-97.
- 193) Wernig K., Griesbacher M., Andreae F., Hajos F., Wagner J., Mosgoeller W., et al. "Depot formulation of vasoactive intestinal peptide by protamine-based biodegradable nanoparticles". *J Control Release* 2008; 130: 192-198.
- 194) Torchilin V.P. "Targeted pharmaceutical nanocarriers for cancer therapy and imaging". *AAPS J* 2007; 9: 128-147.
- 195) Brannon-Peppas L., Blanchette J.O. "Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy". *Adv Drug Deliv Rev* 2004; 56: 1649-1659.
- 196) Freitas S., Merkle H.P., Gander B. "Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology". *J Control Release* 2005; 102: 313-332.