



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**TÍTULO: DESARROLLO DE SISTEMAS  
MICRO Y NANO PARTICULARES DE  
LIBERACIÓN SOSTENIDA PARA  
ADMINISTRACIÓN PARENTERAL**

Autora: Ana Lamas Pillo

D.N.I.: 51484956P

Tutora: Paloma Marina de la Torre Iglesias

Convocatoria: Febrero

## **Resumen**

El diseño de los sistemas nanoparticulares ha evolucionado extraordinariamente en las últimas décadas debido al elevado número de aplicaciones, especialmente en medicina. Este trabajo se centra en el desarrollo de las nanopartículas, ya que el tamaño es más adecuado para la administración por vía parenteral que las micropartículas. También en las distintas estrategias empleadas en el diseño de estos sistemas para conseguir una vehiculización dirigida de los fármacos y evitar la degradación prematura de los mismos, además del desarrollo de sistemas multifuncionales, en especial el teragnóstico. Por último, las nanopartículas pueden estar formadas por diferentes materiales y presentar distintas estructuras, lo que les confiere propiedades únicas útiles para el tratamiento y el diagnóstico de enfermedades.

### **1. Introducción y Antecedentes**

En las últimas décadas, la nanotecnología ha sufrido un gran avance como consecuencia de las numerosas aplicaciones potenciales en distintos campos, entre ellos la medicina<sup>(1-4)</sup>. El desarrollo de sistemas nanoparticulares en medicina tiene aplicaciones tanto diagnósticas como terapéuticas en patologías de distinta índole<sup>(2, 5, 6)</sup>. Se han comercializado o se encuentran en fase de estudio numerosos sistemas nanoparticulares, la mayoría con aplicaciones terapéuticas, y de forma más residual aquellos con aplicaciones diagnósticas o preventivas como las vacunas<sup>(6)</sup>. En cuanto al tratamiento de patologías concretas, los sistemas nanotecnológicos con aplicaciones en terapia tumoral son mayoritarios, presentan un número de productos mucho más elevado que otras patologías<sup>(6)</sup>. El interés despertado en la terapia antitumoral se debe a la mortalidad elevada y en aumento vinculado a dicha patología<sup>(4)</sup>. Los tratamientos antitumorales convencionales más eficaces presentan dificultades tanto en el acceso al tumor, como a nivel de efectos secundarios, además de la poca eficacia que presentan cuando el cáncer ya está extendido<sup>(4,7)</sup>. Las estrategias empleadas en el desarrollo de sistemas nanoparticulares pueden ser útiles para mejorar el tratamiento<sup>(4,7)</sup>. En segundo lugar se encuentran aquellos sistemas con aplicaciones terapéuticas frente a enfermedades infecciosas, y de manera minoritaria aquellos para otras patologías, entre ellas sistemas para el tratamiento de enfermedades inflamatorias, o en medicina regenerativa<sup>(6)</sup>. Este trabajo se centra en el desarrollo de sistemas nanoparticulares, ya que el tamaño es más adecuado para la administración parenteral que los sistemas microparticulares<sup>(4)</sup>. Las nanopartículas se definen como aquellas estructuras de diferente naturaleza con un tamaño aproximado de 100nm<sup>(3,7)</sup>. Las nanopartículas pueden estar cargadas con fármacos, proteínas, material genético (plásmidos, DNA, RNA o siRNA para terapia génica), agentes diagnósticos, etc<sup>(4, 7)</sup>.

Las nanopartículas son estudiadas principalmente como sistemas para la liberación de fármacos<sup>(1)</sup>. El proceso de liberación de un fármaco se realiza a una velocidad específica y en un lugar específico, el órgano o tejido diana<sup>(1)</sup>. Los sistemas de liberación de fármacos convencionales no solucionan algunos problemas derivados de la propia naturaleza del fármaco como la actuación no específica en el lugar de acción que puede generar efectos secundarios o problemas de toxicidad, la degradación prematura de la sustancia activa y las malas características de solubilidad<sup>(1)</sup>. En consecuencia, se han desarrollado sistemas de liberación alternativos como las nanopartículas para suplir estas deficiencias, generando nuevas posibilidades terapéuticas para la liberación eficaz de los fármacos<sup>(3)</sup>.

Los sistemas nanoparticulares para la liberación de fármacos persiguen la finalidad de mejorar la eficacia y seguridad del medicamento<sup>(1)</sup>. En primer lugar, se diseñan estos sistemas para proteger al principio activo de su degradación prematura y conseguir así una liberación más prolongada en el tiempo<sup>(1- 5, 7)</sup>. En segundo lugar, se tiene en cuenta que presenten una permeabilidad adecuada para atravesar las membranas fisiológicas<sup>(1-5,7)</sup>. En último lugar, una liberación dirigida para disminuir los efectos secundarios, la toxicidad y aumentar la concentración del fármaco en el lugar de acción, es decir, con la suma de todo ello, se mejora la biodisponibilidad, y por tanto se puede reducir la dosis<sup>(1- 5, 7)</sup>. Por consiguiente, el empleo de nanopartículas para vehiculizar fármacos presenta una serie de ventajas respecto a los sistemas convencionales<sup>(1)</sup>.

En cuanto a las distintas estrategias empleadas en el diseño de los sistemas de nanopartículas, aquellas que son para evitar la degradación prematura del principio activo se enfocan en el escape del sistema reticuloendotelial o el escape del sistema endolisosomal<sup>(4)</sup>. También, se plantean diferentes estrategias en el desarrollo de nanopartículas para conseguir la liberación localizada del fármaco en el lugar de acción, entre ellas están la orientación pasiva, orientación activa o liberación desencadenada por un estímulo<sup>(1, 8)</sup>. Todas estas tácticas se explican en mayor profundidad a lo largo de este trabajo.

Las nanopartículas como sistemas de liberación no sólo tienen aplicaciones terapéuticas, también se emplean con aplicaciones diagnósticas, que pueden ser tanto *in vivo* como *in vitro*, incluyendo imágenes, con el objetivo de mejorar la sensibilidad y especificidad de las distintas pruebas<sup>(5)</sup>. Además, el mismo sistema puede presentar ambas utilidades, se conoce como teragnosis, consiste en nanopartículas que en la misma estructura albergan la combinación de agentes diagnósticos y terapéuticos<sup>(5, 7)</sup>. La teragnosis permite por un lado la administración de un principio activo con acción terapéutica, y simultáneamente permite visualizar el lugar donde se realiza la acumulación del fármaco dirigido<sup>(9)</sup>.

## 2. Objetivos

El objetivo de este trabajo es proporcionar una descripción general de los tipos de nanopartículas y las distintas estrategias empleadas en el diseño de los sistemas de liberación sostenida por vía parenteral, además de recopilar algunos ejemplos que emplean estos mismos sistemas.

## 3. Metodología

La metodología llevada a cabo en este trabajo consiste en una revisión bibliográfica. Se realiza una búsqueda de información con ayuda de la herramienta BUCea, que permite la búsqueda simultánea de recursos bibliográficos contenidos en diversas bases de datos biomédicas como ScienceDirect y PubMed, entre otras. La estrategia utilizada para la localización de los documentos más relevantes publicados desde el 2010 hasta la actualidad, fue el empleo de las palabras clave: “nanoparticles sustained release parenteral”, “nanomedicine advances”, “Passive targeted nanoparticles”, “Active targeted nanoparticles”, “Nanoparticles released by a stimulus”, “theragnostic nanoparticles”, “polymeric nanoparticles parenteral”, “lipid nanoparticles parenteral”, “Antibody – drugs conjugated nanoparticles parenteral”, “inorganic nanoparticles parenteral”.

- Se excluyeron aquellos artículos anteriores al año 2010, además de aquellos que no contenían el texto íntegro.
- Se incluyeron aquellos artículos que incluían una revisión crítica sobre el desarrollo de las nanopartículas en últimos años, y también aquellos que explicaban las características de las nanopartículas.

Posteriormente, se realizó una nueva búsqueda de artículos específicos citados en la documentación encontrada inicialmente, en ellos se trataba con mayor profundidad algunos aspectos a incluir en este trabajo.

## 4. Resultados y Discusión

### 4.1. Características de los sistemas nanoparticulares

Los sistemas nanoparticulares presentan una serie de características específicas, la más destacada es el tamaño, ya que influye en aspectos tales como la eficacia y seguridad del tratamiento<sup>(1)</sup>. El pequeño tamaño permite una penetración más eficaz de las barreras fisiológicas, el acceso a los capilares y su acumulación en el órgano diana<sup>(1, 4)</sup>. Todo ello afecta al tiempo de circulación en sangre, a la biodisponibilidad, por lo que contribuye a un aumento de la eficacia debido a la retención de las nanopartículas en la diana terapéutica<sup>(4)</sup>. Además los efectos secundarios y la toxicidad asociada quedan reducidos<sup>(1)</sup>. Finalmente, el

tamaño nanométrico de estos sistemas da lugar a una mejora del índice terapéutico, con respecto a las formulaciones convencionales<sup>(1)</sup>.

El tamaño de las nanopartículas es más adecuado para la administración parenteral ya que son demasiado pequeñas para causar fenómenos embólicos y pueden circular a través de la vasculatura, a diferencia de las micropartículas<sup>(4)</sup>. Las micropartículas tienen un mayor diámetro, por lo que pueden provocar fenómenos embólicos en vasos del mismo diámetro<sup>(4)</sup>.

Las nanopartículas administradas por vía parenteral tienen que cumplir una serie de requisitos, aparte de ser sistemas estériles, deben ser biocompatibles, presentar compatibilidad entre la sustancia activa y el resto de los componentes, una cinética de biodegradación y unas propiedades mecánicas adecuadas y ser toxicológicamente seguros<sup>(4)</sup>.

#### 4.2. Estrategias de los sistemas nanoparticulares

En el desarrollo de los sistemas nanoparticulares se valoran distintas estrategias para mejorar el índice terapéutico de los fármacos vectorizados. A continuación se describen algunas de las estrategias empleadas para la vehiculización en el lugar de acción y para evitar la degradación prematura del principio activo, además de los sistemas multifuncionales.

##### 4.2.1. Estrategias para la vectorización de las nanopartículas

Las estrategias utilizadas para la liberación focalizada en el órgano diana de los sistemas de nanopartículas con fármacos son la orientación pasiva, la orientación activa, la liberación desencadenada por un estímulo (figura 1).

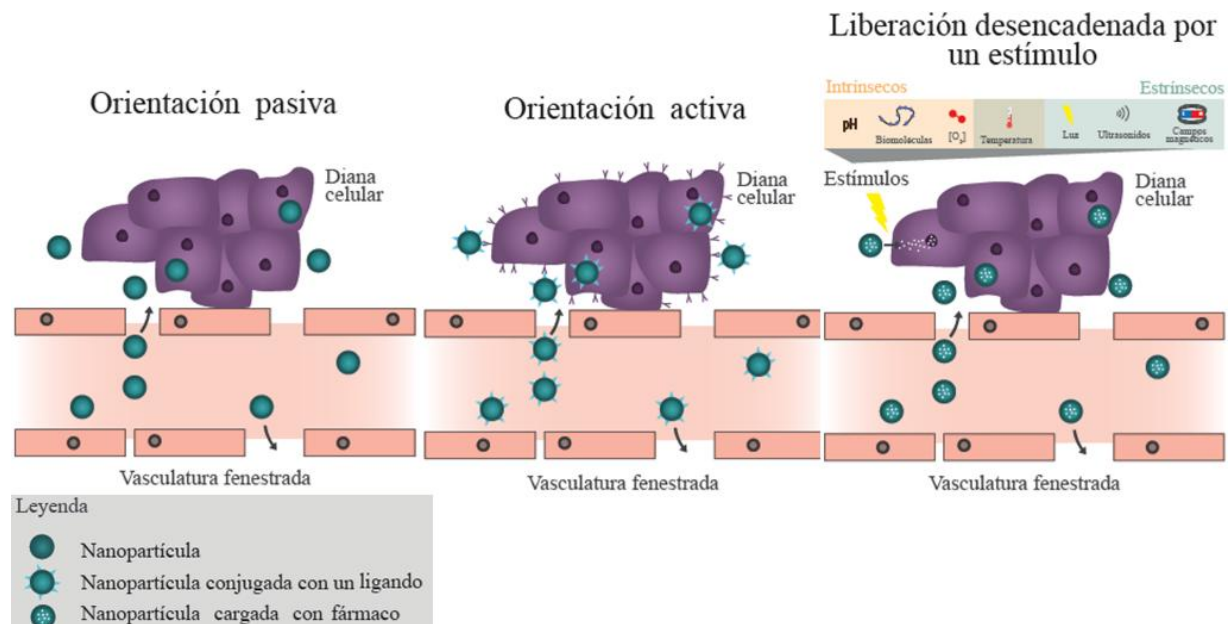


Figura 1\_ Estrategias para la liberación focalizada de las nanopartículas en el órgano diana.

#### 4.2.1.1. Orientación pasiva

La orientación pasiva tiene como objetivo mejorar la biodistribución y eficacia, para ello aprovecha las características fisicoquímicas como el tamaño inherente de las nanopartículas, además del efecto del incremento de la permeabilidad y la retención (efecto EPR) causado en el tejido diana y no requiere un ligando específico en la superficie de las nanopartículas<sup>(4, 7, 8, 10)</sup>. Éste fenómeno ocurre cuando las nanopartículas se acumulan en el espacio intersticial adyacente por situaciones patológicas como los tejidos tumorales o inflamados por varias situaciones<sup>(4, 7)</sup>. Por una parte, el efecto del incremento de la permeabilidad se debe a un endotelio fenestrado, las uniones estrechas y la membrana basal están desordenadas a consecuencia de la situación patológica, permitiendo la entrada de las nanopartículas, un aumento de la extravasación y un menor flujo sanguíneo causando la acumulación de las mismas<sup>(4, 7, 11)</sup>. Por otra parte, el incremento de la retención tisular puede deberse a un deficiente drenaje linfático intersticial por lo que las nanopartículas no se eliminan correctamente y por tanto se acumulan<sup>(4, 7)</sup>.

La orientación dirigida del fármaco de forma pasiva conduce a una absorción del fármaco de una forma más eficiente<sup>(7)</sup>. Sin embargo, esta forma de administración dirigida presenta algunos inconvenientes en la focalización, ya que continúa la administración del fármaco de forma inespecífica, no impide la acumulación de estas nanopartículas en otros órganos con endotelio fenestrado como el hígado y el bazo, por lo que no es suficiente para controlar los efectos secundarios no deseados<sup>(8)</sup>.

La terapia pasiva basada en el efecto EPR que se considera un “gold standard” para el diseño de nuevos agentes antitumorales<sup>(4, 7)</sup>. Se describen algunos ejemplos en la tabla 1.

Tabla 1\_ Nanopartículas basadas en la orientación pasiva.

Nanopartículas	Fármaco	Indicación	Ref.
Nanopartículas de albúmina (Abraxane <sup>®</sup> )	Paclitaxel	Cáncer de mama metastásico	(8)
Nanopartículas lipídicas sólidas	Curcumina	Cáncer de pulmón en células no pequeñas	(12)
Nanopartículas PLGA	Cisplatino	Antitumoral	(13)
Nanopartículas PLGA	Curcumina	Cáncer de ovario, cáncer de mama metastásico	(14)
Nanopartículas PLGA recubierta con albumina (evadir el sistema retículoendotelial)	Docetaxel	Antitumoral	(15)

El efecto EPR se produce al explotar las características fisiopatológicas del tejido tumoral y de su entorno, como la vasculatura y el drenaje linfático alterados<sup>(8)</sup>. Sin embargo, el aumento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos tumorales puede causar una excesiva pérdida de líquidos, disminuyendo la perfusión al tumor y obstaculizando el acceso a las nanopartículas<sup>(16)</sup>. El aumento de la permeabilidad también causa una elevada presión

intersticial, igualándola a la presión de la pared del vaso y del interior, causando una disminución de los flujos intersticiales y transvasculares, por lo que las nanopartículas se transportarían principalmente por difusión, esta disminuye cuando menor es el tamaño de la partícula<sup>(16)</sup>. En ciertas enfermedades malignas como el cáncer de páncreas ocurre este fenómeno de incremento de la presión del fluido intersticial lo que limita el acceso y la penetración de las nanopartículas<sup>(8)</sup>. También presenta otros inconvenientes, como que no es totalmente eficaz para controlar los efectos no deseados de los citostáticos, debido a que el citostático puede acumularse en otros órganos con endotelio fenestrado<sup>8)</sup>. A pesar de ello, los sistemas nanoparticulares aprobados presentan como principal ventaja la disminución de los efectos adversos comparándolos con la quimioterapia convencional<sup>(16)</sup>. Por otra parte, existen dificultades en la estimación del efecto EPR ya que es muy heterogéneo, varía en función del paciente y del tipo de tumor<sup>(7)</sup>. Las diferencias en los tumores, el estroma y el gradiente de oxígeno puede afectar al efecto EPR<sup>(8)</sup>. Por ejemplo, los tumores sólidos y de rápido crecimiento, para cubrir la demanda de nutrientes y de oxígeno producen un mayor liberación de factores que favorecen la permeabilidad vascular (como el óxido nítrico y la bradiquinina), además de una mayor angiogénesis caótica con grandes huecos entre las uniones entre células lo que conduce a un aumento de la permeabilidad, y un mayor aprovechamiento del efecto EPR<sup>(4)</sup>.

#### 4.2.1.2. Orientación activa

La orientación activa consiste en dirigir las nanopartículas cargadas con fármacos mediante ligandos que interactúan de forma específica con tejido diana<sup>(4, 5, 7, 10)</sup>. Esta técnica se basa en la selección de ligandos específicos que se expresan en la superficie de las nanopartículas para unirse a receptores o moléculas de la superficie de la célula diana de forma específica<sup>(4, 5, 7, 10)</sup>. La interacción con el receptor causa la internalización de las nanopartículas mejorando la focalización y la eficacia, ya que se produce un aumento de la concentración en la célula diana<sup>(7,10)</sup>. Los ligandos que se pueden emplear son muy variados, entre ellos están los anticuerpos, las proteínas, los ácidos nucleicos, azúcares, pequeñas moléculas, etc<sup>(10)</sup>. La selección del ligando debe tener en cuenta la unión y el tipo de unión a las células diana, y también la unión a las células sanas para reducirlas al mínimo, por lo que se reduce la captación no específica<sup>(8, 10)</sup>. También influyen otros factores en la eficacia de este sistema a parte de la selección del ligando, como la densidad del ligando y el tamaño de la nanopartícula<sup>(10)</sup>. En el diseño del sistema hay que valorar las posibles barreras fisiológicas o anatómicas que puedan impedir u obstaculizar la interacción de la nanopartícula con la célula diana<sup>(8)</sup>. Además de evitar la prematura degradación y liberación de las nanopartículas,

eludiendo el reconocimiento de dichos ligandos por el sistema inmunitario, reticuloendotelial o endolisosomal que causan su eliminación<sup>(8, 10)</sup>. Por último, hay que considerar el tipo de unión que se utiliza para fijar los ligandos ya que puede afectar a la estabilidad del sistema y a la posición de los restos de direccionamiento<sup>(10)</sup>. En ocasiones se sobreestima la utilidad potencial de la vectorización, ya que la introducción de restos de direccionamiento puede aumentar la inmunogenicidad y la adsorción de proteínas<sup>(8)</sup>. A continuación, se describen algunos ejemplos en la tabla 2.

Tabla 2. Nanopartículas basadas en la orientación activa

Nanopartículas	Fármaco	Ligando	Diana	Indicación	Estudio	Ref.
Nanopartículas de PLGA pegilado conjugado con anticuerpo	Pentamicina	Anticuerpo nbAn33	VSG	Tripanosomosis africana	<i>in vivo</i> , <i>in vitro</i>	(17)
Vehículo lipídico nanoestructurado recubiertos de ácido hialurónico	Paclitaxel	Ácido hialurónico	CD 44	Antitumoral	<i>in vivo</i> , <i>in vitro</i>	(18)
Nanopartículas co – poliméricas de PEG – PDLLA conjugadas con un anticuerpo	Arsénico	Anticuerpo anti – CD44v6	CD 44	Cáncer de páncreas	<i>in vivo</i> , <i>in vitro</i>	(19)
Nanopartículas de sílice mesoporosas conjugadas con ácido fólico	Camptotecina	Ácido fólico	Receptores de folato	Cáncer de páncreas	<i>in vivo</i>	(20)
Nanopartículas de sílice mesoporosas conjugadas con fragmento de anticuerpo	Bevacizumab	Fragmento de anticuerpo scFv	TEM 1	Cáncer de ovario	<i>in vitro</i>	(21)

En el caso concreto de la liberación de agentes antitumorales de forma activa, se han investigado distintas dianas terapéuticas, los ligandos seleccionados pueden unirse a receptores específicos sobre- expresados por las células tumorales o por las células endoteliales del tumor o bien a receptores que no se expresan en las células normales<sup>(7)</sup>. Por tanto, según el ligando empleado se puede destruir directamente el tumor, o destruir el endotelio causando la muerte indirecta del tumor por falta de nutrientes y oxígeno<sup>(7)</sup>. Un ejemplo es el fármaco BIND -14 en fase II de ensayos clínicos se trata de una nanopartícula polimérica de PEG- PLGA que contiene docetaxel y dirige su unión al antígeno de membrana específico de las células de cáncer de próstata, PSMA<sup>(8)</sup>.

La eficacia de la liberación de sistemas nanoparticulares dirigidos cargados con fármacos, está determinada por el grado de penetración de las nanopartículas que depende del transporte por difusión, también por la velocidad de liberación y por la afinidad<sup>(16)</sup>. Si las nanopartículas liberan el fármaco muy rápido, antes de penetrar en el tejido diana se distribuiría por todo el



organismo, en cambio, si la liberación es muy lenta las nanopartículas podrían haber sido ya eliminadas del tejido diana<sup>(16)</sup>. Por otro lado, si las nanopartículas presentan una alta afinidad se producirá su acumulación en las zonas próximas a los vasos<sup>(16)</sup>. Entonces, una penetración profunda la diana terapéutica depende de un alto coeficiente de difusión, que será mayor a menor tamaño, también de una tasa baja de liberación del fármaco y de una adecuada afinidad<sup>(16)</sup>.

#### 4.2.1.3. Liberación desencadenada por un estímulo

Las nanopartículas pueden liberar el fármaco de forma focalizada como una respuesta desencadenada por un estímulo que puede ser intrínseco, debido a las condiciones fisiopatológicas, o bien extrínseco<sup>(8)</sup>. Este sistema es un tipo de orientación activa que contribuye a una mejora de la eficacia y una disminución de los efectos secundarios<sup>(8, 22)</sup>. A continuación, se describen unos ejemplos en la tabla 3.

Tabla 3\_ Nanopartículas cuya liberación es desencadenada por un estímulo

Nanopartículas	Fármaco	Estímulo y Mecanismo	Indicación	Ref.
Nanopartículas de óxido de hierro (NanoTherm®)	-	Campo magnético genera hipertermia.	Cáncer esófago, próstata y glioblastoma multiforme.	(23)
Nanopartículas de oro	Rituximab (recubrimiento)	La luz (láser) libera Rituximab.	Antitumoral	(24)
Nanopartículas co - poliméricas (PEG -PLGA)	Cisplatino	Lisis del enlace covalente hidracina sensible a pH, libera el cisplatino.	Carcinoma de ovario	(25)
Nanopartículas de sílice mesoporosas recubiertas por un polímero (PEGDA)	Doxorrubicina	Enzima MMP-2 interacciona con PEGDA, libera doxorrubicina	Antitumoral	(26)
Nanopartículas de PMAA entrecruzado con enlaces disulfuro, cargado con PFH	Doxorrubicina (recubrimiento)	Ultrasonido genera imagen y calor, libera el fármaco. Las condiciones reductoras y temperatura activan y liberan el fármaco.	Teragnóstico antitumoral.	(27)

##### 4.2.1.3.1. Estímulos intrínsecos

Los estímulos intrínsecos que pueden aprovecharse para la liberación focalizada del fármaco son aquellos producidos por la propia situación patológica a la que queremos combatir como cambios en el pH, la sobre - expresión de ciertas enzimas, la concentración de oxígeno y la temperatura<sup>(8, 22)</sup>.

En el caso concreto del pH, se pueden emplear nanopartículas sensibles al pH para desencadenar la liberación del fármaco, aprovechando las diferencias existentes entre el pH fisiológico normal y el pH de una zona que presenta alguna patología como inflamación,

infección o un tumor ya que es inferior<sup>(22)</sup>. En la terapia antitumoral se aprovecha el pH más ácido consecuencia de la proliferación de las células tumorales donde la angiogénesis es insuficiente, por tanto la demanda de nutrientes y oxígeno no es suficiente, causando la activación de la glucólisis cuyos productos metabólicos, como el ácido láctico generan un ambiente más ácido<sup>(22)</sup>.

Otro estímulo intrínseco que se puede utilizar para desencadenar la liberación del fármaco en la célula diana son ciertas biomoléculas, como las enzimas<sup>(8, 22)</sup>. Las enzimas intervienen en muchos procesos bioquímicos, se expresan en distintos tejidos o son específicos de un tejido concreto<sup>(22)</sup>. En condiciones fisiopatológicas como la inflamación o el cáncer, se pueden sobre-expresar ciertas enzimas (proteasas, fosfolipasas, glicosidasas y glucuronidasas)<sup>(8, 22)</sup>. La diferencia entre el gradiente de concentración del tejido sano y el patológico es utilizada para el diseño de nanopartículas sensibles a dicha concentración de la enzima desencadenando así la liberación del fármaco en el tejido diana<sup>(22)</sup>. Un ejemplo concreto es la sobre- expresión de la metaloproteinasa de la matriz (MMP-2) en tejidos tumorales debido a su función de degradar y remodelar la matriz, se han diseñado nanopartículas de gelatina multietapa que consiguen atravesar las barreras fisiológicas y penetrar profundamente en el tumor debido a la contracción provocada por MMP -2<sup>(8)</sup>. Los sistemas multietapa consisten en una partícula primaria cargada con partículas secundarias más pequeñas, que a su vez contienen el agente terapéutico con el fin de ser lo suficientemente grandes para garantizar tiempos de circulación largos, además y evitar la liberación en tejidos sanos<sup>(16)</sup>.

Otro estímulo intrínseco que se puede utilizar es la concentración de oxígeno, ya varía de un tejido sano a un tejido tumoral donde el entorno presenta bajas concentraciones de oxígeno y es rico en agentes reductores<sup>(8)</sup>. Por ejemplo, el empleo de nanotransportadores con disulfuro, se produce la excisión del enlace disulfuro con la presencia de niveles de glutatión característica de zonas hipóxicas y desencadena la liberación del fármaco<sup>(8)</sup>.

Por último, la temperatura como estímulo intrínseco, ya que en condiciones donde las células están inflamadas o son células tumorales la temperatura es más elevada que en los tejidos sanos, y dan lugar a una serie de cambios fisiológicos<sup>(22)</sup>. El aumento de la temperatura induce un mayor flujo sanguíneo y una mayor permeabilidad, además de una serie de cambios bioquímicos<sup>(11)</sup>. Una opción es el empleo de sistemas nanoparticulares como polímeros no sensibles a las temperaturas elevadas para acumularse en las áreas con mayor temperatura debido al aumento de la permeabilidad en dichas zonas<sup>(22)</sup>.

#### 4.2.1.3.2. Estímulos extrínsecos

Los estímulos para desencadenar la liberación de fármacos también pueden ser estímulos extrínsecos, es decir, inducidos desde el exterior y no dependientes de las propias condiciones fisiológicas. Algunos de estos estímulos pueden ser la temperatura, la luz, ultrasonidos o campos magnéticos<sup>(7, 8, 22)</sup>.

La temperatura también puede ser un factor extrínseco cuando se aplican fuentes de calor externas<sup>(11)</sup>. Esta estrategia se basa en inducir externamente un aumento de temperatura dando lugar una diferencia significativa entre la temperatura de un tejido sano y uno inflamado o tumoral, por tanto el sistema nanoparticular termosensible a una determinada temperatura libera el fármaco<sup>(11)</sup>. El sistema antitumoral Thermodox<sup>®</sup> es una nanopartícula termosensible que cuando se induce un aumento de la temperatura local en un rango de 37 – 42°C se desencadena la liberación del fármaco, además de favorecer la penetración del mismo ya que también incrementa la permeabilidad vascular<sup>8)</sup>.

Otra opción es la aplicación de luz como estímulo para la liberación de fármacos<sup>(8, 22)</sup>. La luz presenta algunas ventajas como su carácter no invasivo y su buen control para la liberación sostenida y focalizada<sup>(8, 12)</sup>. Además, el aumento de la longitud de onda favorece la penetración el fármaco<sup>(8)</sup>. El sistema fotosensible responde a una determinada longitud de onda que puede ser la región ultravioleta, la zona visible o la región próxima al infrarrojo (NIR), esta última es la más adecuada ya que es la que penetra en las zonas más profundas<sup>(22)</sup>. La liberación del fármaco se basa en el cambio estructural del sistema nanoparticular a consecuencia de una reacción inducida por la luz, los mecanismos pueden ser variados como la foto – isomerización reversible o irreversible, la foto – escisión o fotopolimerización<sup>(22)</sup>. También se emplea la luz en terapia fotodinámica del cáncer, donde ciertos fármacos fotosensibles se activan con la luz para generar especies reactivas de oxígeno y radicales libres para matar a las células tumorales<sup>(22)</sup>.

Otra opción es emplear como estímulo los ultrasonidos, se utiliza para liberar agentes de contraste en el lugar del tumor mejorando así la especificidad de la imagen<sup>(7, 8)</sup>. A parte de sus aplicaciones en el diagnóstico, se puede emplear en terapéutica<sup>(28)</sup>. Un sistema de liberación de fármacos desencadenado por ultrasonidos como estímulo externo causa la destrucción de la propia estructura, además de un aumento de la permeabilidad para lograr una administración dirigida, más específica y segura<sup>(28)</sup>.

Otra estrategia es la aplicación externa de campos magnéticos o imanes para guiar a las nanopartículas sensibles a dicho campo para controlar la liberación del fármaco<sup>(7, 8, 22)</sup>. Las partículas inorgánicas y paramagnéticas son sensibles a dicho campo, por ejemplo las

nanopartículas de óxido de hierro son dirigidas al lugar de tumor por un campo magnético, aumentando la especificidad y la concentración del fármaco en la diana<sup>(8)</sup>. Las nanopartículas magnéticas también tienen la capacidad de convertir parte de esa energía magnética en calor cuando se aplica un campo magnético alterno en la diana terapéutica, este calor puede ajustarse en función de la fuerza y duración de la exposición a dicho campo, este aumento de la temperatura destruye las células tumorales además de causar un aumento de la permeabilidad<sup>(22)</sup>.

#### 4.2.2. Multifuncionalidad/teranóstico

Los sistemas multifuncionales formados por partículas pueden realizar varias funciones de forma simultánea, como la administración conjunta de varios fármacos para una terapia combinada o teragnóstico<sup>(8)</sup>. El teragnóstico es la combinación en un mismo sistema de agentes terapéuticos y agentes diagnósticos<sup>(5, 7)</sup>.

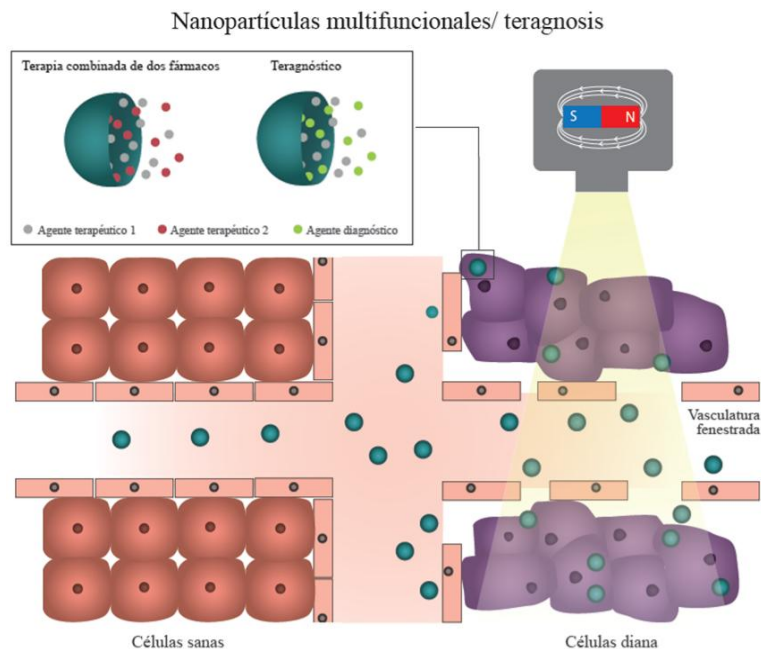


Figura 2\_ Sistema multifuncional/ teragnosis.

Las nanopartículas pueden portar agentes terapéuticos con distintas propiedades fisicoquímicas y comportamientos farmacológicos y presentar una buena relación farmacocinética y biodistribución hasta su lugar de acción a pesar de las diferentes tasas metabólicas<sup>(9)</sup>. Esta relación no se podría mantener en caso de utilizarse distintos dispositivos para la administración de cada agente terapéutico<sup>(11)</sup>. En la terapia antitumoral, la administración conjunta en un mismo sistema de varios fármacos con efectos sinérgicos con diferentes mecanismos de acción puede ser muy beneficiosa para combatir las resistencias a los fármacos, además de la disminución de la dosis reduciendo los efectos secundarios y un aumento de la eficacia<sup>(11)</sup>. Por ejemplo, la nanopartícula multifuncional lipídica CPX-351 que

se encuentra en ensayo clínico, fase III, contiene los agentes quimioterapéuticos citarabina y daunorrubicina en concentración 5:1 que dirige de forma pasiva para el tratamiento de la leucemia mieloide aguda<sup>(11)</sup>. Otro ejemplo, es el estudio *in vitro* de nanopartículas sólidas lipídicas con los fármacos paclitaxel y doxorubicina en cánceres resistentes a múltiples medicamentos causados principalmente por la glicoproteína P de membrana, donde se demostró que conseguían proteger los fármacos y eludir el mecanismo de e- flujo de la glicoproteína P<sup>(29)</sup>.

Las nanopartículas teragnósticas permiten ejecutar de forma simultánea el diagnóstico y la terapia dirigida integrando ambos agentes en un sistema<sup>(30)</sup>. Estos sistemas son un avance hacia la medicina personalizada, permiten validar la terapia a tiempo real. La función diagnóstica sólo es con modalidades de imagen no invasivas para conseguir el diagnóstico temprano, la caracterización de la liberación y el seguimiento de la eficacia<sup>(30)</sup>. Las modalidades pueden ser imágenes ópticas, resonancia magnética, tomografía computerizada o tomografía por emisión de positrones<sup>(30)</sup>. La función terapéutica, incluye agentes de naturaleza muy diversa, en el cáncer se aplica quimioterapia, terapia fotodinámica, terapia siRNA y terapia fototérmica<sup>(30)</sup>. Un ejemplo, es el estudio tanto *in vivo* como *in vitro* del sistema teragnóstico formado por nanopartículas de albúmina que contiene el agente antitumoral doxorubicina, y el agente diagnóstico indocianina, un colorante del infrarrojo cercano<sup>(31)</sup>.

#### 4.2.3. Estrategias para evitar la degradación prematura de las nanopartículas

El sistema reticuloendotelial se encarga de destruir cualquier partícula extraña mediante la opsonización y fagocitosis de los macrófagos, por ello las nanopartículas tienen que presentar características que les permitan escapar de este sistema<sup>(4)</sup>. La disminución del aclaramiento por parte del sistema reticuloendotelial se puede conseguir mediante distintas estrategias, donde se modifican las características de las nanopartículas, como el tamaño, la carga, la superficie y la composición<sup>(32)</sup>. La disminución de la captación de las nanopartículas por parte de este sistema supone aumentar el tiempo de vida media<sup>(4, 32)</sup>. El tamaño es un aspecto a tener en cuenta, se puede emplear como estrategia ya que las partículas de mayor tamaño se eliminan más rápido del torrente circulatorio que las de menor tamaño<sup>(32)</sup>. Otro factor que influye es la carga, las nanopartículas cargadas negativa o positivamente se eliminan más rápido de la circulación que las nanopartículas neutras o bipolares<sup>(32)</sup>. Otra estrategia es modificar la superficie de la nanopartícula con polímeros (polietilenglicol, PEG) o copolímeros (PEG-PLGA (ácido glico poli láctico))<sup>(4)</sup>. Esta disminución de la absorción por parte del reticulo

endotelial se cree que se debe a que disminuye la interacción de la superficie de la nanopartículas con las proteínas<sup>(4)</sup>.

Las nanopartículas tras la internalización acceden al interior de la célula donde se encuentra la diana terapéutica, posteriormente pasan por el sistema endolisosomal<sup>(4)</sup>. Las vesículas endolisomales se caracterizan por presentar un pH bajo y contener enzimas, todo ello puede llevar a la degradación prematura de la nanopartícula<sup>(33)</sup>. Algunas nanopartículas están dirigidas al sistema endolisosomal que es su diana, pero otras nanopartículas requieren de una estrategia de diseño que escape del sistema reticuloendotelial<sup>(33)</sup>. Las nanopartículas con capacidad amortiguadora del pH facilitan el escape del sistema endolisosomal, se produce la captación de protones por parte del polímero en el compartimento endosomal, la protonación del polímero conduce a un aumento de la presión osmótica, rompe la membrana endolisosomal y se produce la liberación<sup>(33)</sup>. La abundancia de grupos amina multivalentes en un polímero tienen esa capacidad<sup>(34)</sup>. Aunque las nanopartículas con lípidos o polímeros catiónicos pueden causar problemas de toxicidad, el empleo de un polímero como PLGA que sólo es catiónico en el compartimento endosomal y no desestabiliza los lisosomas conduce a una disminución de la toxicidad<sup>(4)</sup>. Las nanopartículas también se pueden recubrir de péptidos sintéticos sensibles al pH, en condiciones de bajo pH se produce un cambio estructural de los mismos y atraviesan la membrana de la vesícula<sup>(33)</sup>. Otra estrategia con mayor complejidad y coste, es utilizar vectores virales con capacidad para fusionarse con la membrana de endosomal, la nanopartícula cargada con el fármaco se fusiona y sale al citoplasma<sup>(33)</sup>.

#### 4.3. Estructuras de los sistemas nanoparticulares

Las nanopartículas pueden ser de naturaleza lipídica, polimérica o inorgánica, pueden presentar distintas estructuras<sup>(8)</sup> (figura 3). Además pueden estar cargadas con fármacos de distinta naturaleza, con virus, proteínas, ácidos nucleicos<sup>(8)</sup>

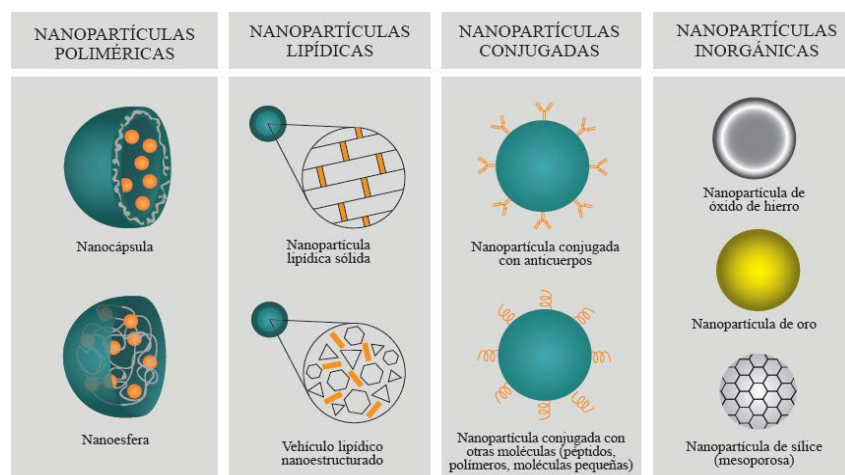


Figura 3\_ Las distintas estructuras y composición de las nanopartículas.

#### 4.3.1. Nanopartículas poliméricas

Las nanopartículas poliméricas según el tipo de estructura que presentan pueden tratarse de nanoesferas o nanocápsulas<sup>(1)</sup>. Las nanoesferas presentan una estructura cuya matriz es un polímero, en ella se encuentra disperso el principio activo, bien en la superficie, o atrapado o disuelto en la matriz<sup>(1)</sup>. Las nanocápsulas en cambio presentan una estructura recubierta por un polímero y en cuyo núcleo interno se encuentra el principio activo, éste puede estar o bien disuelto en el núcleo o adsorbido en la superficie del mismo<sup>(1)</sup>.

Los polímeros por los que están formadas estas nanopartículas pueden ser de origen natural o sintético<sup>(1)</sup>. Los polímeros naturales pueden ser de naturaleza proteica, como la albúmina, o de naturaleza polisacárida como el quitosano<sup>(8)</sup>. Los polímeros sintéticos más característicos son PGA, PLA, PGLA, PCL<sup>(8)</sup>. Los polímeros sintéticos están libres de algunos problemas que presentan los polímeros naturales, presentando buenas características de biocompatibilidad, biodegradabilidad y generando subproductos seguros<sup>(4)</sup>.

#### 4.3.2. Nanopartículas lipídicas

Las nanopartículas lipídicas son aquellas cuya matriz está formada por lípidos, que pueden ser de origen natural o sintético. Según la estructura que presentan pueden tratarse de nanopartículas lipídicas sólidas o de vehículos lipídicos nanoestructurados<sup>(35, 36)</sup>.

Las nanopartículas lipídicas sólidas son aquellas que presentan una red cristalina sin imperfecciones, presentan pequeños espacios donde se incorpora el fármaco<sup>(35)</sup>. Esta estructura se constituye exclusivamente a partir de lípidos sólidos a temperatura ambiente y a temperatura corporal<sup>(28, 36)</sup>. Estos sistemas tienen la capacidad de liberar y dirigir de forma controlada a los fármacos que pueden ser hidrófilos o lipófilos, son estables, no presentan toxicidad, entre otras características<sup>(36)</sup>. La principal desventaja que presentan es la baja capacidad de carga de fármaco, además de liberar el principio activo durante el tiempo que está almacenado debido a las transformaciones polimórficas de los lípidos sólidos<sup>(36)</sup>.

Los vehículos lipídicos nanoestructurados son aquellos que presentan una matriz con imperfecciones donde se alberga el fármaco<sup>(35, 36)</sup>. El menor grado de organización de la matriz lipídica tiene como objetivo aumentar la capacidad de carga<sup>(36)</sup>. Esta estructura se constituye a partir de una mezcla de lípidos, algunos son líquidos y otros son sólidos<sup>(35, 36)</sup>. La ventaja de incorporar lípidos líquidos, es que estos suelen presentar mejores características de solubilidad que los lípidos sólidos<sup>(36)</sup>.

#### 4.3.3. Nanopartículas conjugadas

Las nanopartículas conjugadas son aquellas cuyos principios activos se encuentran unidos covalentemente a anticuerpos, péptidos específicos, polímeros, pequeñas moléculas, etc<sup>(8)</sup>.

Las nanopartículas conjugadas con anticuerpos presentan una estructura que consiste en un anticuerpo, el fármaco, y un ligando que une los dos<sup>(37)</sup>. El mecanismo de acción consiste en que el anticuerpo se une a un antígeno que se expresa selectivamente en la superficie de una célula diana, éste entra en la célula mediante endocitosis, se degrada en el lisosoma dejando libre al principio activo para que actúe<sup>(37)</sup>. La liberación de la sustancia activa está limitada por el número de antígenos de superficie a los que se pueda unir y al proceso de liberación del fármaco del sistema<sup>(38)</sup>. En el diseño de estos sistemas la sustancia activa tiene que cumplir una serie de requisitos como ser estable, tener una buena solubilidad en el mismo medio que el anticuerpo, poder introducir grupos funcionales que permitan la conjugación con el anticuerpo y presentar la potencia suficiente para ser efectiva<sup>(38)</sup>. Por otro lado, el conector tiene que ser diseñado para que sufra un proceso de excisión al entrar en la célula diana, y por tanto liberar el fármaco<sup>(38)</sup>. Por último, el anticuerpo tiene la función de orientar de forma activa al fármaco a través de una reacción antígeno – anticuerpo<sup>(38)</sup>. La selección del anticuerpo debe tener en cuenta que el antígeno al que se va a unir selectivamente exprese en la superficie de la célula diana un alto número de antígenos y la afinidad<sup>(38)</sup>.

#### 4.3.4. Nanopartículas inorgánicas

Las nanopartículas inorgánicas son aquellas cuya matriz está formada por compuestos inorgánicos. Existen una amplia variedad de materiales inorgánicos, los más usados para este tipo de formulaciones son el óxido de hierro, el oro y el sílice<sup>(8)</sup>.

Las nanopartículas de óxido de hierro presentan una serie de características como la capacidad de responder frente a estímulos magnéticos externos, buenas propiedades de biocompatibilidad y biodegradabilidad<sup>(39, 40)</sup>. La respuesta frente a estímulos magnéticos externos puede emplearse como vehículos para dirigir el fármaco al órgano diana<sup>(39, 40)</sup>. Además tienen la capacidad de producir hipertermia como respuesta a un estímulo cuya consecuencia es la destrucción del tejido enfermo<sup>(39, 40)</sup>. Además también se pueden emplear como agentes de contraste en el diagnóstico formando imágenes mejoradas por resonancia magnética<sup>(39)</sup>.

Las nanopartículas de oro presentan unas propiedades ópticas y fototérmicas características además de una fácil optimización del sistema modificando el tamaño y la forma de la estructura<sup>(39)</sup>. Sus propiedades ópticas de absorción y dispersión de la luz pueden emplearse como agentes de contraste para la formación de imágenes en el diagnóstico<sup>(39, 40)</sup>. Las nanopartículas de oro pueden responder a estímulos lumínicos exteriores para proceder a la liberación del fármaco de una forma dirigida y sostenida<sup>(39)</sup>. Las nanopartículas de oro expuestas a la luz del infrarrojo cercano, la absorben y generan calor, destruyendo el tejido



circulante enfermo, esta técnica está limitada por el nivel de penetración de la luz en el tejido<sup>(40)</sup>. La modificación del tamaño y de la estructura dando lugar a un sistema de liberación optimizado, aunque en el diseño hay que tener en cuenta que estas características pueden afectar tanto al lugar de destino como a la función biológica<sup>(39)</sup>.

Las nanopartículas de sílice pueden ser fácilmente modificables con precisión parámetros como el tamaño, forma, porosidad (mesoporosa) con la finalidad de ajustarlos optimamente a su aplicación clínica<sup>(39)</sup>. La porosidad influye en la capacidad de carga del fármaco, las nanopartículas de sílice mesoporosas tienen un nivel de carga mucho mayor que otras nanopartículas de distinta naturaleza<sup>(39)</sup>. A parte de una buena capacidad de almacenamiento y liberación de fármacos, pueden vehicular principios activos tanto hidrófilos como hidrófobos<sup>(39)</sup>. Estos sistemas permiten modificaciones en la superficie, pudiendo incorporar distintas clases de ligandos que pueden tener distintas funciones como dirigir de forma activa al fármaco o agentes diagnósticos que faciliten la formación de imágenes, o ligandos que respondan a estímulos externos para liberar el fármaco, etc<sup>(39)</sup>. Todas estas modificaciones influyen en la orientación, en la carga y liberación del principio activo, en la internalización y circulación<sup>(39)</sup>. Además presentan poca toxicidad y buenas características de biodegradabilidad<sup>(39)</sup>. Por lo que estos sistemas pueden ser multifuncionales y causar un gran impacto en el tratamiento y diagnóstico<sup>(40)</sup>.

## **5. Conclusiones**

El desarrollo de sistemas nanoparticulares ha generado un gran impacto en la tecnología aplicada a la vehiculización de agentes terapéuticos y agentes diagnósticos, lo que supone una mejora en los tratamientos de enfermedades con etiología muy dispar y en el diagnóstico prematuro. La versatilidad en el tamaño, los componentes y estructuras que pueden presentar las nanopartículas da lugar a un enorme abanico de posibilidades, cada uno de estos factores se valora durante el diseño para adecuarlos a la aplicación del sistema. Además el empleo nuevas técnicas con la finalidad de evitar la degradación prematura de la sustancia activa, de sistemas multifuncionales (teragnóstico) y de conseguir una liberación dirigida a la célula diana, consiguiendo una liberación más prolongada en el tiempo, una mayor eficacia y una disminución de los efectos adversos. La suma de todos estos aspectos, da lugar una mejoría de los tratamientos y el diagnóstico con respecto a los sistemas convencionales.

## **6. Bibliografía**

- <sup>(1)</sup> Parveen S, Misra R, Sahoo S. K. Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. *Nanomedicine*. 2012; 8(2), 147-166.

- (2) Chakraborty M, Jain S, Rani V. Nanotechnology: emerging tool for diagnostics and therapeutics. *Appl Biochem and Biotechnol.* 2011; 165(5-6), 1178-1187.
- (3) Moniruzzaman Md, Morshed M. M, Ashraf M. A. Nanotechnology: A possible healer in drug delivery system. *AJBPS.* 2014; 04 (29), 1-6.
- (4) Acharya S, Sahoo S.K. PLGA nanoparticles containing various anticancer agents and tumour delivery by EPR effect. *Adv Drug Deliv Rev.* 2011; 63 (3), 170-183.
- (5) Boisseau P, Loubaton B. Nanomedicine, nanotechnology in medicine. *C R Phys.* 2011; 12, 620-36.
- (6) Noorlander C. W, Kooi M. W, Oomen A. G, Park M. V, Vandebriel R J, Geertsma R.E. Horizon scan of nanomedicinal products. *Nanomedicine (Lond).* 2015; 10(10), 1599-608.
- (7) Danhier F, Ansorena E, Silva J. M, Coco R, Le Breton A, Préat V. PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications. *J Control Release.* 2012; 161(2), 505 – 522.
- (8) Wicki A, Witzigmann D, Balasubramanian V, Huwyler J. Nanomedicine in cancer therapy: Challenges, opportunities, and clinical applications. *J Control Release.* 2015; 200, 138-157.
- (9) Sáez-Fernández E, Pérez-Artacho B, Martínez-Soler G. I, Gallardo Lara V, Arias Mediano J. L. Teragnosis: un nuevo concepto en el tratamiento del cáncer. *Aph.* 2010; 51, 177-181.
- (10) Bertrand N, Wu J, Xu X, Kamaly N, Farokhzad O. C. Cancer nanotechnology: the impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology. *Adv Drug Deliv Rev.* 2014; 66, 2-25.
- (11) Xu X, Ho W, Zhang X, Bertrand N, Farokhzad O. Cancer nanomedicine: from targeted delivery to combination therapy. *Trends Mol Med* 2015; 21(4), 223-232.
- (12) Wang P, Zhang L, Peng H, Li Y, Xiong J, Xu Z. The formulation and delivery of curcumin with solid lipid nanoparticles for the treatment of on non-small cell lung cancer both in vitro and in vivo. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2013; 33, 4802–4808.
- (13) Moreno D, Zalba S, Navarro I, Tros de Ilarduya C, Garrido M.J. Pharmacodynamics of cisplatin- loaded PLGA nanoparticles administered to tumor – bearing mice. *Eur J Pharm Biopharm.* 2010; 74, 265-274.
- (14) Yallapu M. M, Gupta B. K, Jaggi M, Chauhan S. C. Fabrication of curcumin encapsulated PLGA nanoparticles for improved therapeutic effects in metastatic cancer cells. *J colloid interface sci.* 2010; 351(1), 19-29.
- (15) Manoochehri S, Darvishi B, Kamalinia G, Amini M, Fallah M, Ostad S. N et al. Surface modification of PLGA nanoparticles via human serum albumin conjugation for controlled delivery of docetaxel. *Daru.* 2013; 21 (1), 58.

- <sup>(16)</sup> Stylianopoulos T, Jain R. K. Design considerations for nanotherapeutics in oncology. *Nanomedicine*. 2015; 11(8), 1893-1907.
- <sup>(17)</sup> Arias J. L, Unciti-Broceta J. D, Maceira J, del Castillo T, Hernández-Quero J, Magez, S et al. Nanobody conjugated PLGA nanoparticles for active targeting of African Trypanosomiasis. *J Control Release*. 2015; 197, 190-198.
- <sup>(18)</sup> Yang X-Y, Li Y-X, Li M, Zhang L, Feng L.-X, Zhang N. Hyaluronic acid-coated nanostructured lipid carriers for targeting paclitaxel to cancer. *Cancer Lett*. 2013; 334, 338–345.
- <sup>(19)</sup> Qian C, Wang Y, Chen Y, Zeng L, Zhang Q, Shuai X, Huang K. Suppression of pancreatic tumor growth by targeted arsenic delivery with anti-CD44v6 single chain antibody conjugated nanoparticles. *Biomaterials*. 2013; 34 (26), 6175-6184.
- <sup>(20)</sup> Lu J, Li Z, Zink J. I, Tamanoi F. In vivo tumor suppression efficacy of mesoporous silica nanoparticles-based drug-delivery system: enhanced efficacy by folate modification. *Nanomedicine*. (2012); 8(2), 212-220.
- <sup>(21)</sup> Zhang Y, Guo J, Zhang X. L, Li D. P, Zhang T. T, Gao F. F et al. Antibody fragment-armed mesoporous silica nanoparticles for the targeted delivery of bevacizumab in ovarian cancer cells. *IJP*. 2015; 496(2), 1026-1033.
- <sup>(22)</sup> Jhaveri A, Deshpande P, Torchilin V. Stimuli-sensitive nanopreparations for combination cancer therapy. *J Control Release*. 2014; 190, 352-370.
- <sup>(23)</sup> Gil P. R, Hühn, D, Loretta L, Sasse D, Parak W. J. Nanopharmacy: Inorganic nanoscale devices as vectors and active compounds. *Pharmacol Res*. 2010; 62(2), 115-125.
- <sup>(24)</sup> Bisker G, Yeheskely-Hayon D, Minai L, Yelin D. Controlled release of Rituximab from gold nanoparticles for phototherapy of malignant cells. *J Control Release*. 2012; 162(2), 303–309.
- <sup>(25)</sup> Aryal S, Hu C-M. J, Zhang L. Polymer–cisplatin conjugate nanoparticles for acid-responsive drug delivery. *ACS Nano*. 2010; 4, 251–258
- <sup>(26)</sup> Singh N, Karambelkar A, Gu L, Lin K, Miller J. S, Chen C. S et al. Bioresponsive mesoporous silica nanoparticles for triggered drug release. *J Am Chem Soc*. 2011; 133(49), 19582-19585.
- <sup>(27)</sup> Yang P, Li D, Jin S, Ding J, Guo J, Shi W, Wang C. Stimuli-responsive biodegradable poly (methacrylic acid) based nanocapsules for ultrasound traced and triggered drug delivery system. *Biomaterials*. 2014; 35(6), 2079-2088.
- <sup>(28)</sup> Shim M. S, Kwon Y. J. Stimuli-responsive polymers and nanomaterials for gene delivery and imaging applications. *Adv Drug Deliv Rev*. 2012; 64(11), 1046-1059.

- <sup>(29)</sup>Miao J, Du Y-Z, Yuan H, Zhang X-G, Hu F-Q. Drug resistance reversal activity of anticancer drug loaded solid lipid nanoparticles in multi-drug resistant cancer cells. *Colloids Surf B: Biointerfaces*. 2013; 110, 74–80.
- <sup>(30)</sup>Ryu J. H, Koo H, Sun I. C, Yuk S. H, Choi K, Kim K, Kwon I. C. Tumor-targeting multi-functional nanoparticles for theragnosis: new paradigm for cancer therapy. *Adv Drug Deliv Rev*. 2012; 64(13), 1447-1458.
- <sup>(31)</sup>Kolluru L. P, Rizvi S. A, D'Souza M, D'Souza M. J. Formulation development of albumin based theragnostic nanoparticles as a potential delivery system for tumor targeting. *J Drug Target*. 2013; 21(1), 77-86.
- <sup>(32)</sup>Liu L, Hitchens T. K, Ye Q, Wu Y, Barbe B, Prior D. E. et al. Decreased reticuloendothelial system clearance and increased blood half-life and immune cell labeling for nano-and micron-sized superparamagnetic iron-oxide particles upon pre-treatment with Intralipid. *BBA Clin*. 2013; 1830(6), 3447-3453.
- <sup>(33)</sup>Chou L. Y, Ming K, Chan W. C. Strategies for the intracellular delivery of nanoparticles. *Chem Soc Rev*. 2011; 40(1), 233-245.
- <sup>(34)</sup>Tu J, Wang T, Shi W, Wu G, Tian X, Wang Ye et al. Multifunctional ZnPc-loaded mesoporous silica nanoparticles for enhancement of photodynamic therapy efficacy by endolysosomal escape. *Biomaterials*. 2012; 33(31), 7903-7914.
- <sup>(35)</sup>Yoon G, Park J. W, Yoon I. S. Solid lipid nanoparticles (SLNs) and nanostructured lipid carriers (NLCs): recent advances in drug delivery. *JPI*. 2013; 43(5), 353-362.
- <sup>(36)</sup>Estanqueiro M, Amaral M. H, Conceição J, Lobo J. M. S. Nanotechnological carriers for cancer chemotherapy: The state of the art. *Colloids Surf B: Biointerfaces*. 2015; 126, 631-648.
- <sup>(37)</sup>Flygare J.A, Pillow T.H, Aristoff P. Antibody-drug conjugates for the treatment of cancer. *Chem Biol Drug Des*. 2013; 81, 113–121.
- <sup>(38)</sup>Chari R.V.J, Miller M.L, Widdison W.C. Antibody-drug conjugates: an emerging concept in cancer therapy. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2014; 53, 3796–3827.
- <sup>(39)</sup>Anselmo A. C, Mitragotri S. A Review of Clinical Translation of Inorganic Nanoparticles. *AAPS*. 2015; 1-14.
- <sup>(40)</sup>Huang H. C, Barua S, Sharma G, Dey S. K, Rege K. Inorganic nanoparticles for cancer imaging and therapy. *J control Release*. 2011; 155(3), 344-357.