



Universidad Autónoma Metropolitana

Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Licenciatura Química Farmacéutica Biológica

Nanomateriales con potencial uso en el tratamiento de cáncer mama

Estudiante

Yissel Anahid Lázaró Montiel



Asesor:

I.Q. Celerino Muñoz Estrada



Periodo de realización

3 de septiembre de 2018 – 31 de mayo de 2019

Contenido

I.	Introducción	2
II.	Cáncer	3
III.	Nanotecnología.....	3
	Síntesis de nanopartículas poliméricas	7
	Caracterización	7
	Tamaño de partícula y caracterización del área de superficie	8
IV.	Objetivos	9
V.	Alcance.....	9
VI.	Campo de aplicación.....	9
VII.	Muestra	9
VIII.	Desarrollo experimental.....	10
IX.	Resultados y análisis	12
X.	Conclusión	14
XI.	Bibliografía.....	14

I. Introducción

El cáncer de mama es el tipo más común y letal en mujeres a nivel mundial, su incidencia global ha aumentado en más del 20% desde 2008, cada año se reportan cerca de 1.5 millones de casos nuevos, lo que representa el 25% del total de casos de cáncer (De Santis et al. 2014). Los datos recopilados por GLOBOCAN 2018 proporcionan estimaciones de la incidencia, mortalidad y prevalencia del cancer en todo el mundo. Los datos de prevalencia del cancer de mama lo convierte en un problema de salud pública a nivel mundial, involucrando a cientos de organizaciones para combatirlo (Bray et al. 2018).

El cáncer de mama tiene clasificaciones bastante complejas. En cualquier caso, una vez que el cáncer hace metástasis, el valor de muchas opciones de tratamiento estándar (cirugía, terapia hormonal, radioterapia, terapia dirigida, quimioterapia o una combinación de estas estrategias terapéuticas) disminuye considerablemente (Lee et al. 2017). Por lo tanto, todavía estamos en extrema necesidad de nuevos procedimientos que puedan ofrecer tratamiento para este padecimiento.

La Nanotecnología se define por la Iniciativa Nacional de Nanotecnología (<http://www.nano.gov>) como investigación y desarrollo tecnológico a escala átomo molecular o macromolecular que conduce a la creación y uso controlados de estructuras, dispositivos y sistemas con una escala de longitud de aproximadamente 100 nanómetros.

La nanomedicina es una opción terapéutica en desarrollo. Por definición, la nanomedicina se refiere a la aplicación biomédica de materiales con al menos una dimensión por debajo de 100 nm, aunque los dispositivos de 100-200 nm a menudo se consideran nanomedicina en la práctica (Wu et al. 2017). Los ejemplos de nanomedicina van desde liposomas, nanopartículas, micelas, dendrímeros, nanotubos, etc., y pueden estar hechos de diversos materiales, incluidos lípidos, fosfolípidos, polímeros, proteínas, materiales inorgánicos y una combinación de ellos. En particular, en la terapia contra el cáncer, el uso de nanotransportadores ha ayudado a mejorar la solubilidad en agua de los medicamentos, aumenta la eficacia de la administración de medicamentos a los sitios tumorales mediante una liberación controlada, permite la administración dirigida al órgano diana manteniendo el efecto terapéutico y mejorando la calidad de vida del paciente. Aunque las ventajas son atractivas, estos nanotransportadores también tienen algunas limitaciones, que incluyen toxicidad potencial, posible inmunogenicidad y restricciones en el mecanismo de excreción (Wu et al. 2017; Lee et al. 2017; Zhang et al. 2016).

Se debe tener en cuenta que la nanomedicina puede cumplir una amplia gama de funciones para los pacientes con cáncer, además del tratamiento, que incluye la reparación de tejidos, la detección de enfermedades (Wu et al. 2017).

El objetivo de este trabajo consiste en desarrollar el proceso de nanopartículas poliméricas acarreadoras de un fitofármaco derivado de "*Kalanchoe daigremontiana*", con potencial uso en el tratamiento de cáncer de mama.

II. Cáncer

El cáncer incluye una variedad de enfermedades que surgen como resultado del crecimiento no regulado de células malignas, que tienen el potencial de invadir o extenderse a otras partes del cuerpo. Con más de 10 millones de casos nuevos cada año, se proyecta que las muertes aumenten en un futuro cercano con una estimación de la Organización Mundial de la Salud de ~ 13.1 millones de muertes relacionadas con el cáncer para el año 2030 ([Senapati et al. 2018](#))

Bray y colaboradores (2018) publicaron una estimación de casos y muertes en todo el mundo para los principales tipos de cáncer entre las mujeres, por nivel de desarrollo, los cánceres de mama, colorrectal y de pulmón son los tres cánceres diagnosticados con mayor frecuencia.

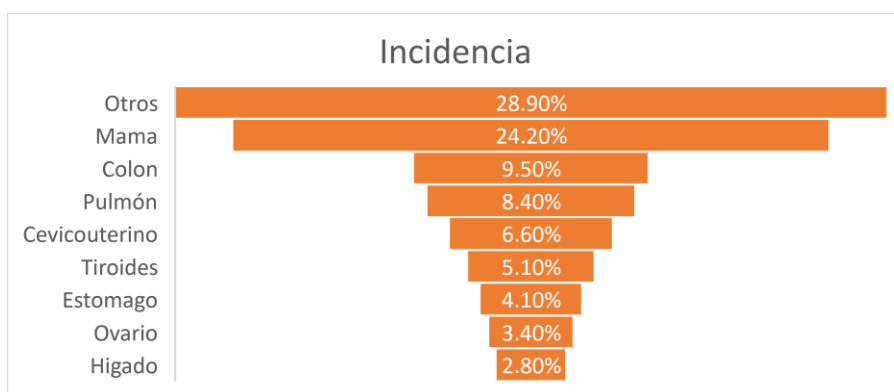


Figura 1. Representa la distribución de casos de los cánceres más comunes

El cáncer de mama es diagnosticado con mayor frecuencia y es la principal causa de muerte en todo el mundo. Los riesgos establecidos que aumentan el riesgo de cáncer de seno incluyen antecedentes familiares de la enfermedad, variación genética en *KRCA 1* o *2*, factores reproductivos que influyen en la exposición endógena al estrógeno, consumo de alcohol, inactividad física, exceso de peso corporal, uso de hormonas exógenas (anticonceptivos orales y terapia de reemplazo hormonal para la menopausia) y dosis altas de radiación en el pecho, especialmente a una edad temprana ([Torre et al. 2017](#)).

III. Nanotecnología

El término nanotecnología hace referencia a un campo multidisciplinario que se encarga del estudio, el diseño, la síntesis y la aplicación de materiales y sistemas funcionales a través del control de la materia a nivel de la nanoescala ([National Nanotechnology Initiative, 2016](#)).

La Comisión Europea (CE) adoptó una Recomendación 'sobre la definición de nanomaterial' (CE 2011) en octubre de 2011. Esta Recomendación (2011/696 / UE)

define un nanomaterial en general como un “material natural, incidental o manufacturado que contiene partículas en un estado no unido o como un agregado o como un aglomerado y donde, para el 50% o más de las partículas en la distribución de tamaño de número ([Kestens et al. 2016](#))

En los últimos años, la nanotecnología ha impactado enormemente distintas áreas de investigación. Tal es el caso de la medicina, por su capacidad para administrar medicamentos en el rango de dosificación óptimo, lo que a menudo resulta en una mayor eficacia terapéutica de los medicamentos, efectos secundarios debilitados y un mejor cumplimiento del paciente ([Khan et al. 2017](#)).

Durante las últimas décadas, ha habido un interés considerable en el desarrollo de NP biodegradables como dispositivos eficaces de administración de medicamentos ([Zhang y Saltzman, 2013](#)).

La nanomedicina se vislumbra como la puerta de entrada a una serie de estrategias de diagnóstico y tratamiento que superen muchos de los obstáculos que enfrentan las terapias convencionales ([Rojas-Aguirre et al. 2016](#)).

El término «*nanomedicina*» ganó gran popularidad, pero también vino acompañado de un poco de confusión y problemas de interpretación, por lo cual, la organización The European Science Foundation, después de intensos debates, estableció la siguiente definición ([Duncan y Gaspar, 2011](#)):

La aplicación de la nanotecnología al diagnóstico, la prevención y el tratamiento de enfermedades y, en consecuencia, al entendimiento de los procesos patofisiológicos que intervienen en el origen y curso de una enfermedad determinada.

Esta definición abarca las 3 áreas principales que la nanotecnología debe satisfacer para fines médicos: liberación de fármacos e ingeniería de tejidos, diagnóstico y la conjunción de terapia y diagnóstico ([Rojas-Aguirre et al. 2016](#)).

Las razones por las cuales se considera que la nanomedicina enfocada al diagnóstico y los sistemas de liberación revolucionará los tratamientos contra el cáncer son:

1. Debido a su estructura y tamaño, los nanosistemas se pueden «cargar» con una gran cantidad de fármaco, creando sistemas tipo reservorio, con lo cual se podría disminuir el número de dosis en un tratamiento. Por otro lado, manipulando la estructura y las propiedades fisicoquímicas, se pueden cargar 2 fármacos diferentes en un solo sistema para dar lugar a terapias de combinación ([Zhang et al. 2016](#)).
2. Debido a su versatilidad química, los nanosistemas pueden ser funcionalizados en su superficie con moléculas que reconozcan selectivamente a la célula cancerígena (péptidos, proteínas, anticuerpos) y con polímeros que optimicen su farmacocinética ([Liu y Auguste, 2015](#)).
3. Los nanoacarreadores se pueden diseñar para superar o evitar la resistencia a los fármacos que transportan ([Bao et al. 2016](#)).

Los efectos terapéuticos de muchos medicamentos contra el cáncer y el resultado de las terapias contra el cáncer podrían mejorarse significativamente si:

- 1) el suministro del medicamento ocurre específicamente a los tumores (células cancerosas) o preferiblemente dentro de orgánulos específicos en las células
- 2) la reducción del medicamento reduce los efectos secundarios tóxicos.

En el caso de fármacos poco solubles, el problema de solubilidad / biodisponibilidad también podría superarse. Se han utilizado diversos nanoportadores farmacéuticos (liposomas, micelas y nanopartículas poliméricas) en la preparación de nuevas formulaciones de dosificación con buena biodisponibilidad y suministro específico de fármacos a los tumores. El potencial Z, el tamaño, la carga de superficie catiónica y la solubilidad son factores que afectan la biocompatibilidad de estos nanotransportadores. Estos factores influyen en la citotoxicidad (reactividad de la superficie), el proceso de depuración (renal o biliar), el reconocimiento de MPS (sistema de fagocitos mononucleares) / RES (sistema reticuloendotelial) y el efecto EPR (permeabilidad y retención aumentadas) ([Zamboni et al. 2012](#)).

Tang y colaboradores (2017) reportaron características físicas y químicas de los materiales a nanoescala que aseguran la entrega efectiva de medicamentos. Los polímeros se usan ampliamente para la administración de medicamentos debido a su versatilidad, facilidad de modificación y baja variabilidad de lote a lote ([Zhang y Saltzman, 2013](#)).

Se han desarrollado innumerables nanomateriales con el rápido desarrollo de la nanotecnología en los últimos 30 años, pero solo unos pocos sistemas basados en nanopartículas pueden usarse en el campo biomédico e incluso menos de ellos pueden cumplir con los requisitos de la FDA.

En comparación con los agentes quimioterapéuticos convencionales, los portadores de fármacos a nanoescala han demostrado el potencial para abordar algunos de estos desafíos al mejorar la eficacia del tratamiento y al mismo tiempo evitar la toxicidad en las células normales debido a características como la alta acumulación selectiva en los tumores a través del efecto de permeabilidad y retención aumentado (EPR) y captación celular activa, la tecnología de nanopartículas se ha convertido en un enfoque de formulación bien establecido y probado para medicamentos poco solubles. En el campo de los productos farmacéuticos, el término 'nanopartículas (NP)' se aplica a estructuras de menos de 1 μm de tamaño. La mayor absorción intracelular de nanopartículas debido a su rango de tamaño submicrónico ofrece una clara ventaja sobre las micropartículas ([Senapati et al, 2018](#))

Las nanopartículas (NP) se definen como partículas coloidales con un tamaño que varía de uno a varios cientos de nanómetros ([Zhang y Saltzman, 2013](#)). Los NP no están compuestos de tres capas, las cuales son ([Shin et al., 2016](#)):

(a) La capa superficial, que puede funcionalizarse con una variedad de moléculas pequeñas, iones metálicos, tensioactivos y polímeros.

(b) La capa de cubierta, que es un material químicamente diferente del núcleo en todos los aspectos.

(c) El núcleo, que es esencialmente la parte central del NP

Muchos investigadores señalan que pequeños cambios en el tamaño y la forma pueden afectar significativamente las propiedades de las nanopartículas. Una muestra de NP puede ser heterogénea con distintas subpoblaciones después de la síntesis ([Pelaz et al. 2017](#)).

Khan y colaboradores (2017), publicaron que las NP se dividen ampliamente en varias categorías según su morfología, tamaño y propiedades químicas. Según las características físicas y químicas, algunas de las clases bien conocidas como, NP a base de carbón, NP de metal, NP de cerámica, NP semiconductores, NP basados en lípidos y NP poliméricas.

Las nanopartículas (NP) son componentes clave de la nanomedicina, y actualmente el desarrollo de nanoestructuras para la liberación de fármacos, conocidos como nanoacarreadores, ha ido evolucionando con la nanotecnología y la biotecnología. A través de la manipulación de las propiedades de los materiales disponibles se han podido generar nanoestructuras con fines deseados, de esta forma el fármaco puede ser encapsulado, atrapado, adsorbido o unido químicamente a la nanoestructura.

El objetivo principal en el desarrollo de vehículos de suministro de medicamentos es abordar con éxito estos problemas relacionados con el suministro y llevar los medicamentos a los sitios deseados de acción terapéutica mientras se reducen los efectos secundarios adversos ([Senapati et al. 2018](#)).

Los materiales y las tecnologías que se han utilizado para la construcción de nanosistemas de liberación de fármacos son muy diversos, pero se pueden clasificar de manera muy general en 2 grandes grupos ([ilustración 1](#)) ([Torchilin, 2014](#)).

a. Nanoestructuras orgánicas. En este grupo se encuentran los materiales poliméricos con los que se construyen nanoesferas, nanocápsulas, micelas, liposomas, dendrímeros y conjugados polímero-fármaco.

b. Nanoestructuras inorgánicas. Bajo esta clasificación están las nanopartículas de óxidos metálicos, nanopartículas de sílica mesoporosa y nanotubos de carbono

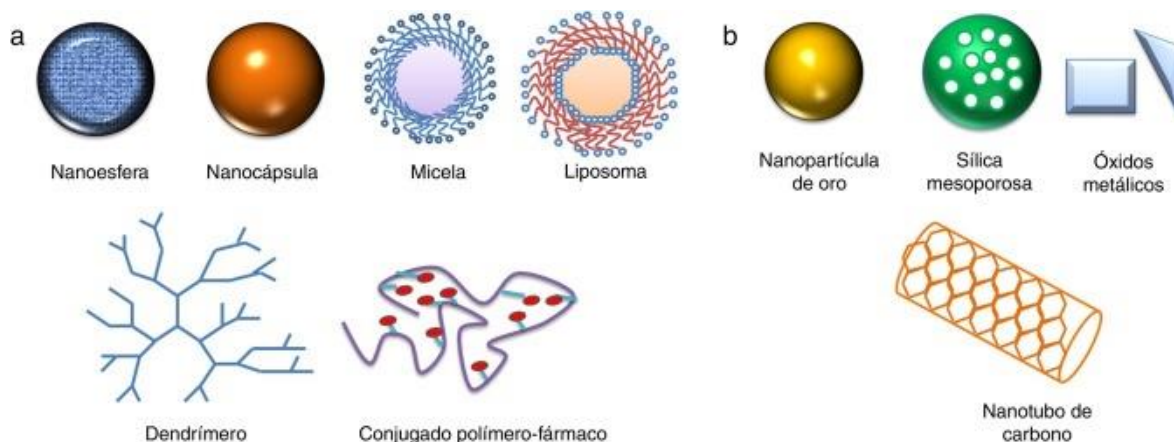


Figura 2 Representación de nanoestructuras orgánicas (a) e inorgánicas (b) para el transporte y liberación de fármacos

Síntesis de nanopartículas poliméricas

Se pueden emplear varios métodos para la síntesis de NPP. Estos enfoques se dividen en varias subclases según la operación.

Las nanopartículas poliméricas pueden prepararse mediante polímeros preformados o mediante polimerización de monómeros. Los métodos comúnmente usados son: salting out, emulsión evaporación del solvente, doble emulsión y la usada en el desarrollo de este trabajo; desplazamiento del solvente, la cual consiste en la precipitación del polímero preformado desde una solución orgánica y la difusión del disolvente orgánico en un medio acuoso en presencia de un estabilizante. El polímero, el fármaco y/o un surfactante lipofílico se vierte en un disolvente semipolar y miscible con agua, acetona o etanol. La solución es entonces inyectada en la solución acuosa que contiene el estabilizante bajo agitación mecánica. Las nanopartículas se forman instantáneamente debido a la rápida difusión del disolvente, el cual puede ser eliminado a presión reducida o por centrifugación (Bilati, Allémann, & Doelker, 2005).

Caracterización

Las características estructurales son de importancia primordial para estudiar la composición y la naturaleza de los materiales de unión. Proporciona información diversa sobre las propiedades a granel del material en cuestión. La XRD, el analizador de rayos X de energía dispersiva (EDX), XPS, FT-IR, Raman y BET son las técnicas comunes utilizadas para estudiar las propiedades estructurales de los NP.

La caracterización vibratoria de las nanopartículas se estudia normalmente mediante espectroscopias FT-IR y Raman. Estas técnicas son las más desarrolladas y factibles en comparación con otros métodos analíticos elementales. El rango más importante para las NP es la región de huellas digitales, que proporciona información de firma sobre el material (Khan et al. 2017).

Espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Vis) es una de las más populares técnicas analíticas es versátil y capaz de detectar casi cualquier molécula. Se puede utilizar de una manera cualitativa, para identificar grupos funcionales o confirmar la identidad de un compuesto haciendo coincidir el espectro de absorbancia.

Tamaño de partícula y caracterización del área de superficie

Se pueden utilizar diferentes técnicas para estimar el tamaño de las NP. Estos incluyen SEM, TEM, XRD, AFM y dispersión dinámica de luz (DLS) y el análisis de potencial ζ . SEM, TEM, XRD y AFM pueden dar una mejor idea sobre el tamaño de partícula (Kestens et al., 2016; Pelaz et al. 2017).

La dispersión dinámica de luz (DDL o DLS, por sus siglas en inglés de "Dynamic light Scattering"), es una técnica físico-química empleada para la determinación de la distribución de tamaños de partículas en suspensión o macromoléculas en solución tales como proteínas o polímeros (Estelrich y Pons 1991). DLS mide el coeficiente de difusión traslacional de partículas que se mueven aleatoriamente en un medio líquido a través del movimiento browniano (Kestens et al. 2016). En los últimos años, dispersión de luz dinámica (DLS) se ha convertido en un método popular para abordar y comprender mejor el crecimiento de cristales, el inicio de la agregación o la nucleación de macromoléculas. Debido a que es una técnica sensible para evaluar las interacciones macromoleculares y para detectar la formación de agregados en solución.

El potencial ζ es una propiedad de los materiales que miden el potencial electrocinético en sistemas coloidales en la química coloidal; se denota por lo general con la letra griega zeta. Desde un punto de vista físico, la potencial zeta es el potencial eléctrico en la doble capa interfacial; es decir que es el punto donde se unen la capa difusa y la de Stern.

La importancia del potencial zeta aporta información de las causas de dispersión, agregación o floculación y se aplica para mejorar las formulaciones de emulsiones y suspensiones también indica el grado de repulsión entre partículas adyacentes, cargadas en una dispersión (Hunter 1988). Para las moléculas y partículas que son lo suficientemente pequeños, un alto potencial zeta le confiere estabilidad, es decir, la solución o dispersión se resistirá a la agregación.

IV. Objetivos

General

Desarrollar el proceso de nanopartículas poliméricas acarreadoras de un fitofármaco derivado de "*Kalanchoe daigremontiana*", con potencial uso en el tratamiento de cáncer de mama.

Particulares

Obtener un potencial Z cercano a 0 mV y un diámetro hidrodinámico inferior a 50 nm.

V. Alcance

El presente proyecto tiene como meta la generación de conocimiento en nanomateriales con vista en el desarrollo de la nanomedicina en México.

VI. Campo de aplicación

El trabajo tiene aplicación en el campo interdisciplinario de la nanomedicina, donde la nanociencia, la nano ingeniería y la nanotecnología interactúan con las ciencias de la vida.

Se espera que la nanomedicina conduzca al desarrollo de mejores dispositivos, medicamentos y otras aplicaciones para el diagnóstico temprano o el tratamiento de una amplia gama de enfermedades con alta especificidad, eficacia y personalización, con el objetivo de mejorar la calidad de vida de los pacientes.

VII. Muestra

La síntesis de sustancias también tiene lugar en una variedad de otros organismos animales y vegetales, incluidas las plantas etnomedicinales del género *Kalanchoe*. Químicamente, los bufadienólidos son un grupo de esteroides polihidroxi C-24 y sus glucósidos, que contienen un anillo de lactona de seis miembros (α -pirona) en la posición C-17 β . Desde el punto de vista farmacológico, las bufadienólidos podrían ser un grupo prometedora de hormonas esteroides con propiedades cardioactivas y actividad anticancerígena; sin embargo, el uso medicinal de estos compuestos sigue siendo limitado por su índice terapéutico estrecho y el riesgo de desarrollar efectos cardiotóxicos (Kolodziejczyk-Czepas y Stochmal, 2017)

Kolodziejczyk-Czepas y Stochmal (2017) reportaron una compilación de datos respecto al género *Kalanchoe* en etnomedicina.

Un extracto acuoso de las raíces de *Kalanchoe daigremontiana* (*Bryophyllum daigremontianum*) Raym-Hamet & H. Perrier (nombre común: Madre de miles), de la familia Crassulaceae, resultó ser una rica fuente de bufadienólidos.

Los datos de la literatura existente se refieren principalmente a las partes aéreas de *Kalanchoe daigremontiana* (*Bryophyllum daigremontianum*) Raym-Hamet & H. Perrier (nombre común: Madre de miles), de la familia Crassulaceae, en 2016 Moniuszko-Szajwaj y equipo publicaron una investigación preliminar de las raíces lo que mostró la presencia de compuestos fenólicos y una cantidad considerable de bufadienólidos, con estructuras probablemente diferentes de las que se encuentran en las partes aéreas.

Para la realización del proyecto se utilizaron raíces de *Kalanchoe daigremontiana*. Los especímenes de "*Kalanchoe daigremontiana*" fueron recolectados del poblado de Ixmiquilpan, que se encuentra localizado en la parte central poniente del Estado de Hidalgo. El clima en la zona es templado con un promedio de 17.7 grados media anual de temperatura y un promedio pluvial de 470 milímetros anuales. La muestra fue colectada durante la época de floración (noviembre-diciembre). Se recolectaron aproximadamente 20 kg de material vegetal, el cuál fue separado en sus componentes: hojas, tallos y raíces.

VIII. Desarrollo experimental

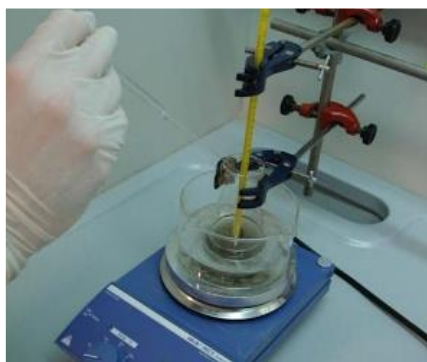
Las nanopartículas poliméricas se prepararon según el método descrito por Fessi en 1987, basado en la formación de NPP debido a la turbulencia interfacial generada durante el desplazamiento del disolvente, debido a que la miscibilidad entre la fase acuosa y orgánica provoca una violenta propagación del disolvente polar de donde las partículas son arrancadas de la interfase del proceso de difusión, las cuales son rápidamente estabilizadas por el surfactante. En la metodología propuesta se usa un agente reticulante que actúa sobre el polímero para obtener producto con menor diámetro hidrodinámico.



Se disuelve gelatina tipo A, en una mezcla azeotrópica de etanol-agua manteniendo condiciones de 55°C por 15 min.



Si se desea cargar el producto, se vierte extracto y se mantiene en agitación y calentamiento constante



En agua desionizada a 55°C, se vierte Span 80, Tween 80 y 1,1 carbonildiimidazol



La fase orgánica se añade a la acuosa bajo agitación magnética



La solución obtenida se somete a ultrasonido a temperatura de 50°C



Se centrifuga el producto obtenido, se separa el precipitado y el sobrenadante por decantación.

IX. Resultados y análisis

El diámetro hidrodinámico de las nanopartículas poliméricas fue determinado por dispersión de luz dinámica (DLS) con el equipo Nano Zetasizer Malvern, modelo ZEN 3600 y el potencial ζ fue determinado en el mismo equipo.

La figura 3 y 4 representa la determinación de tamaño de los polímeros sin carga y con carga del fitofármaco, la diferencia se debe a que las nanopartículas poliméricas cargadas presentan un incremento de tamaño, probablemente debido a que, el extracto interacciona con el polímero formando enlaces que incrementan su tamaño.

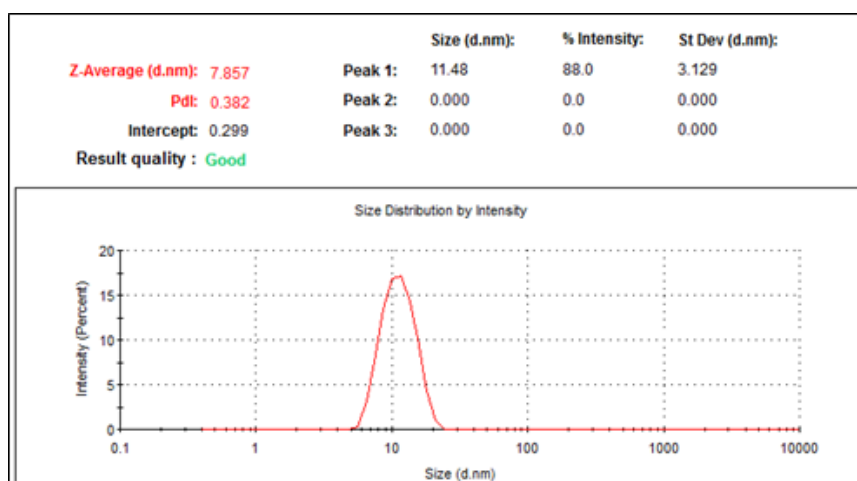


Figura 3. Lectura de diámetro hidrodinámico en nanopartículas poliméricas no cargadas.

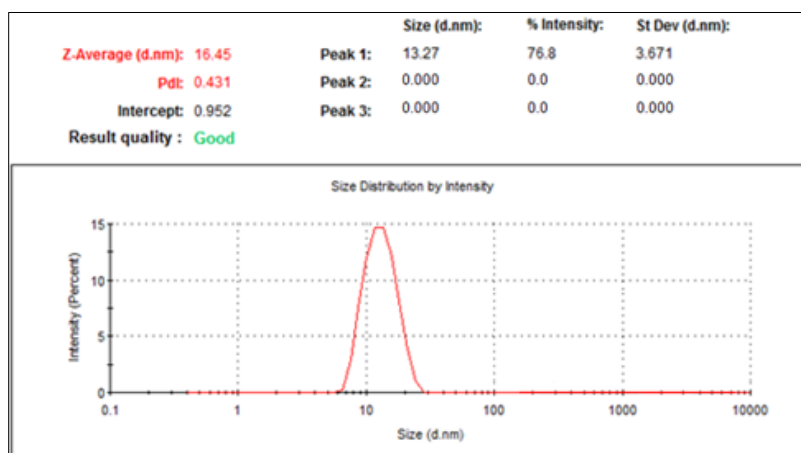


Figura 4. Lectura de diámetro hidrodinámico en nanopartículas poliméricas cargadas con fitofármaco

El potencial ζ es un parámetro para describir el potencial de la doble capa cercano a la superficie de las nanopartículas. Representado en la figura 5 y 6 de nanopartículas sin carga y con carga, el cual está influenciado por la composición de la partícula y el medio en el que se dispersa. Las nanopartículas con un potencial ζ fuera del rango ± 30 mV han demostrado ser estables en suspensión, debido a que la carga superficial evita la agregación de las partículas (Velazco-Rodríguez et al. 2012).

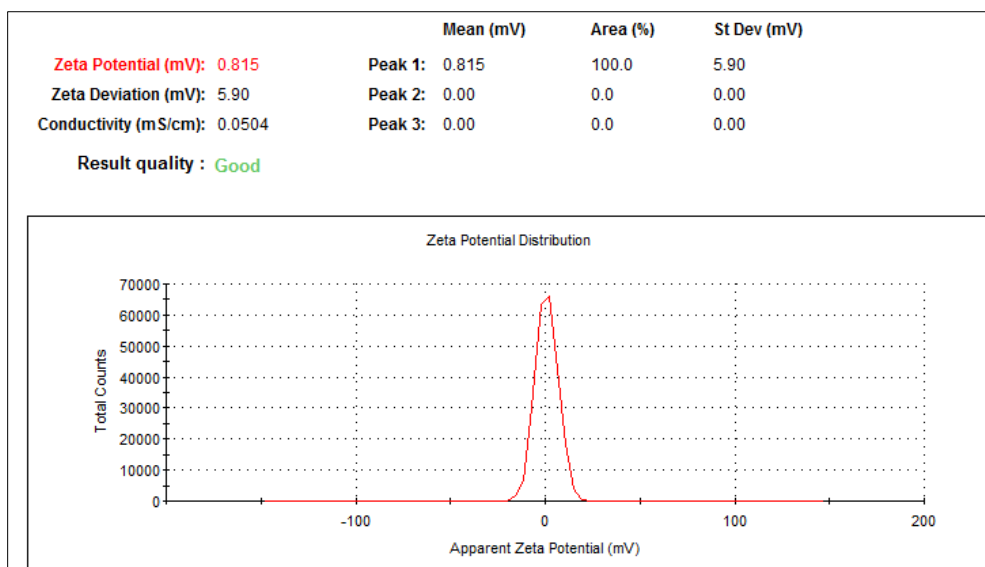
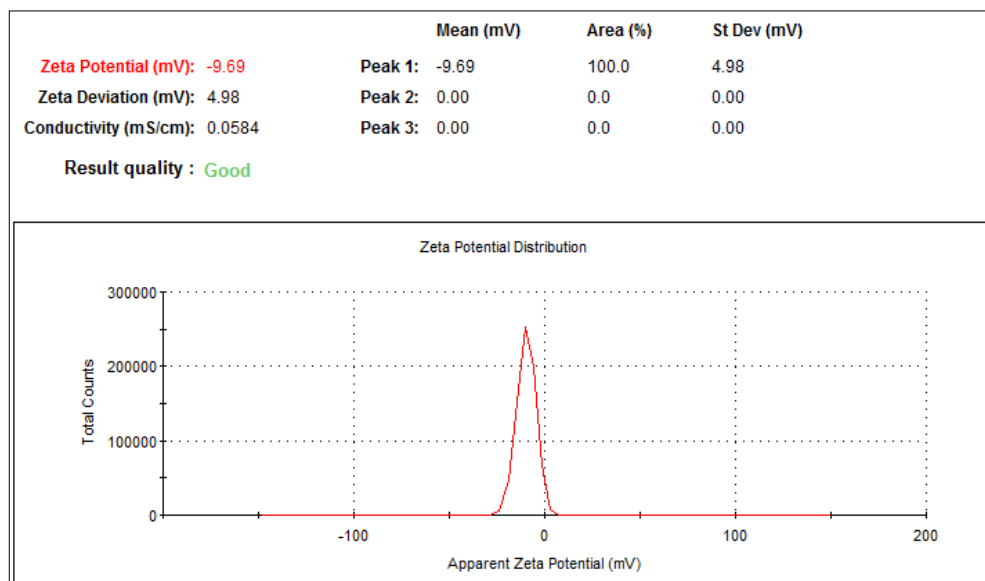


Figura 5. Lectura de potencial Z en nanopartículas poliméricas no cargadas.



6. Lectura de potencial Z en nanopartículas poliméricas cargadas con fitofármaco.

Figura

X. Conclusión

La técnica modificada para la obtención de nanopartículas poliméricas por desplazamiento del disolvente para la nanoencapsulación de extracto obtenido de "*Kalanchoe daigremontiana*" demostró ser factible para la obtención de un producto con diámetro hidrodinámico inferior a 50 nm y con potencial ζ cercano a 0 mV.

XI. Bibliografía

1. Bao, M. Yin, X. Hu, X. Zhuang, Y. Sun, Y. Guo, et al. A safe, simple and efficient doxorubicin prodrug hybrid micelle for overcoming tumor multidrug resistance and targeting delivery. *Journal of Controlled Release*, 235 (2016), pp. 182-194
2. Bilati, U. Allémann, E. Doelker, E. (2005). Development of a nanoprecipitation method intended for the entrapment of hydrophilic drugs into nanoparticles. *Eur J Pharm Sci*, 24(1):67-75. doi: 10.1016/j.ejps.2004.09.011
3. DeSantis C, Ma J, Bryan L, Jemal A. Breast cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin*. 2014;64(1):52–62.
4. Devarajan, V., Ravichandran, V. (2011) Nanoemulsions: As modified drug delivery tool. *Pharmacie Globale International Journal of Comprehensive Pharmacy*, vol. 2, núm 4: 1-6.
5. Dong H, Wen B, Melnik R. Relative importance of grain boundaries and size effects in thermal conductivity of nanocrystalline materials *Sci. Rep.*, 4 (2014), p. 7037, 10.1038/srep07037
6. Duncan R, Gaspar R. Nanomedicine(s) under the Microscope *Molecular Pharmaceutics*, 8 (6) (2011), pp. 2101-2141
7. Estelrich, J. & Pons, M., La espectroscopía de correlación fotónica y sus aplicaciones, *Industria farmacéutica: Equipos, procesos y tecnología* 4, 81-86 (1991). ISSN 0213-5574
8. Hunter, R. J., Zeta potential, In: *Colloid Science: Principles and Applications*, (Academic Press, UK, 1988).
9. Kestens V, Roebben G, Herrmann J, Jämting A, Coleman V, Minelli C, Clifford C, De Temmerman P. J, Mast J, Junjie L, Babick F, Cölfen H, Emons H. Challenges in the size analysis of a silica nanoparticle mixture as candidate certified reference material, *J. Nanopart. Res.*, 18 (2016), p. 171, 10.1007/s11051-016-3474-2
10. Khant I, Saeed K, Khan I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry* (2017). doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011
11. Kolodziejczyk-Czepas, J., & Stochmal, A. (2017). Bufadienolides of *Kalanchoe* species: an overview of chemical structure, biological activity

- and prospects for pharmacological use. *Phytochemistry reviews: proceedings of the Phytochemical Society of Europe*, 16(6), 1155–1171. doi:10.1007/s11101-017-9525-1
12. Lee, J. J., Saiful Yazan, L., & Che Abdullah, C. A. (2017). A review on current nanomaterials and their drug conjugate for targeted breast cancer treatment. *International journal of nanomedicine*, 12, 2373-2384. doi:10.2147/IJN.S127329
 13. D. Liu, D.T. Auguste Cancer targeted therapeutics: From molecules to drug delivery vehicles. *Journal of Controlled Release*, 219 (2015), pp. 632-643
 14. Moniuszko-Szajwaj, B., Pecio, Ł., Kowalczyk, M., & Stochmal, A. (2016). New Bufadienolides Isolated from the Roots of *Kalanchoe daigremontiana* (Crassulaceae). *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(3), 243. doi:10.3390/molecules21030243
 15. National Nanotechn, National Nanotechnology Initiative (2016). Disponible en: <http://www.nano.gov/nanotech-101/what/definition> [consultado 30 Jul 2019].
 16. Pelaz, B., Alexiou, C., Alvarez-Puebla, R. A., Alves, F., Andrews, A. M., Ashraf, S., ... Parak, W. J. (2017). Diverse Applications of Nanomedicine. *ACS nano*, 11(3), 2313–2381. doi:10.1021/acsnano.6b06040
 17. Rojas-Aguirre, Y. Aguado-Castrejón, K. González-Méndez, I. La nanomedicina y los sistemas de liberación de fármacos: ¿la (r)evolución de la terapia contra el cáncer? *Nanomedicine and drug delivery systems: the (r)evolution of cancer therapy?* Educacion Quimica. Volume 27, Issue 4, October 2016, Pages 286-291 doi.org/10.1016/j.eq.2016.07.002
 18. Senapati, S., Mahanta, AK, Kumar, S. y Maiti, P. (2018). Controlled drug delivery vehicles for cancer treatment and their performance. *Signal transduction and targeted therapy*, 3, 7. doi: 10.1038 / s41392-017-0004-3
 19. Sinn HP, Kreipe H. A brief overview of the WHO classification of breast tumors. *Breast Care*. 2013;8(2):149–154.
 20. Tang, X., Loc, W. S., Dong, C., Matters, G. L., Butler, P. J., Kester, M., ... Adair, J. H. (2017). The use of nanoparticulates to treat breast cancer. *Nanomedicine (London, England)*, 12(19), 2367–2388. doi:10.2217/nnm-2017-0202
 21. Torre LA, Islami F, Siegel RL, Ward EM, Jemal A. Global cancer in women: burden and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2017;26(4):444–457.
 22. Torchilin V. P. Multifunctional, stimuli-sensitive nanoparticulate systems for drug delivery. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 13 (11) (2014), pp. 813-827
 23. Velasco-Rodríguez, V., Cornejo-Mazón, M., FloresFlores, J. O., Gutiérrez-López, G. F. and HernándezSánchez, H., Preparation and properties of alpha-lipoic acid-loaded chitosan nanoparticles, *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 11, 155-161 (2012).
 24. Wu, D., Si, M., Xue, H. Y., & Wong, H. L. (2017). Nanomedicine applications in the treatment of breast cancer: current state of the art. *International journal of nanomedicine*, 12, 5879-5892. doi:10.2147/IJN.S123437
 25. Zamboni, W. C., Torchilin, V., Patri, A. K., Hrkach, J., Stern, S., Lee, R., ... Grodzinski, P. (2012). Best practices in cancer nanotechnology: perspective from NCI nanotechnology alliance. *Clinical cancer research: an official journal*

of the American Association for Cancer Research, 18(12), 3229–3241. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2938

26. Zhang X, Lai Z, Liu Z, Tan C, Huang Y, Li B, Zhao M, Xie L, Huang W, Zhang H. A facile and universal top-down method for preparation of monodisperse transition-metal dichalcogenide nanodots. *Angew. Chemie Int. Ed.*, 54 (2015), pp. 5425-5428, 10.1002/anie.201501071
27. Zhang, R. X., Wong, H. L., Xue, H. Y., Eoh, J. Y., & Wu, X. Y. (2016). Nanomedicine of synergistic drug combinations for cancer therapy - Strategies and perspectives. *Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society*, 240, 489-503.