

## EL PEQUEÑO MUNDO DE LOS LIPOSOMAS

Adrià Hernández León

En el mundo hay cosas pequeñas: botones, hormigas, grapas, aquella pieza del puzle perdida que se niega a aparecer cuando ya lo hemos casi terminado... todas ellas son útiles, de una manera u otra, pero no es hasta que las necesitamos que apreciamos lo importantes que son (sobre todo cuando urge). En este artículo hablaremos de algo aún más pequeño (¿MÁS?) pero que tiene un valor considerablemente mayor: los liposomas. Y es que ya se sabe lo que se dice: *“Las pequeñas cosas marcan una gran diferencia”*.

Entonces, vamos al grano, **¿Qué son estos liposomas? ¿Qué utilidad tienen? ¿En qué campo de acción los podemos ver?**

En el departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Barcelona nos acercaremos a algunas de las soluciones a estas preguntas, además de acercarnos al trabajo que llevan a cabo que les ha granjeado fama mundial, siendo invitados por ello a diversos congresos y eventos de índole europea y mundial.

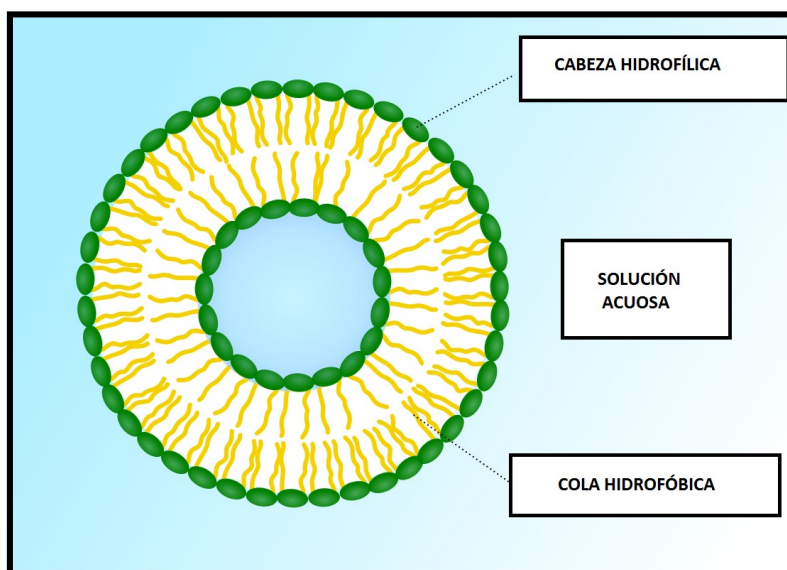


A la izquierda la **Dra. Margarita Mora** y a la derecha la **Dra. Mª Lluïsa Sagristà**, del departamento de **Bioquímica i Biología Molecular** de la facultad de Biología de la **Universidad de Barcelona**, centradas en estudios sobre liposomas y otros nanosistemas particulados.

## Descubriendo a los liposomas

### ¿Qué son?

Un liposoma (del griego compuesta por *lipo*, «grasa», y *soma*, *somatos*, «cuerpo») es una burbuja enana (vesícula) hecha del mismo material que una membrana celular. Las membranas normalmente están hechas de fosfolípidos, que son moléculas que tienen una característica fundamental: son anfipáticas. ¿Qué quiere decir esto? Pues que tienen un extremo que es hidrofílico (la cabeza), es decir, que es soluble en agua, y otro que es hidrofóbico, lo cual significa que rechaza el agua (la cola). En la naturaleza, los fosfolípidos se encuentran en membranas estables compuestas de dos capas (bicapa). En presencia de agua, la cabeza es atraída hacia el agua y se alinean para formar una superficie dirigida al agua. La cola es repelida por el agua, y se alinean para formar una superficie lejos del agua. En una célula, una capa de cabezas está encarada hacia la parte interna de la



*Estructura de un liposoma.*

[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Liposome\\_scheme-en.svg#/media/File:Liposome\\_scheme-en.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Liposome_scheme-en.svg#/media/File:Liposome_scheme-en.svg)

célula, atraída por el agua dentro de ella. La cola de hidrocarburos de una capa mira hacia la otra cola de hidrocarburos de la otra capa y la estructura combinada forma la bicapa.

Cuando la membrana de fosfolípidos es desorganizada, pueden volver a juntar ellas mismas en esferas pequeñísimas, más pequeñas que una célula normal, en forma de bicapas o de monocapas. Las estructuras hechas de bicapas que se generan son liposomas mientras que las que están hechas de una monocapa se les llama micelas.

Los lípidos en la membrana son fundamentalmente fosfolípidos como fosfatidiletanolaminas y fosfatidilcolinas.

### **Un poco de historia...**

El concepto de estructuras laminares compuestas de sistemas de lípidos y agua utilizado como modelo tiene una larga historia. Sin embargo, no fue hasta los años 60 hasta que se puso mucho énfasis en el estudio de las propiedades de los sistemas lípido-agua como modelo de biomembranas. Inicialmente se denominaron "Bangosomas", después de que Alec Douglas Bangham (1921-2010), un biofísico inglés, los descubriera. El propio Bangham propuso el

nombre "Anfisoma" como un término más apropiado ya que las moléculas de las membranas tenían características anfifílicas.



Alec Bangham.  
(retrato realizado por su hijo Humphrey Bangham)

Los pioneros en el campo de los modelos de biomembranas, Bangham, Chapman, Dervichian y Luzzati, estudiaron estos sistemas desde diferentes puntos de vista. El estudio de propiedades dinámicas y submicroscópicas de estos modelos de membrana, como la fluidez, el cambio a otras estructuras mesomórficas y fases de transición fue, durante un tiempo, llevado a cabo de manera separada y distintivamente de otras propiedades macroscópicas como la captura de iones y características de liberación de moléculas. Algunas de estas investigaciones han sido útiles hoy en día para ver más de cerca la estructura dinámica de las biomembranas como la fluidez de la matriz lipídica y sus propiedades de difusión mientras que otras han llegado a ser una herramienta potente para los sistemas de transporte de fármacos (ya lo propuso en 1976 Gregory Gregoriadis).

En los recientes años ha habido avances considerables en las investigaciones sobre el rol de los liposomas como vesículas de transporte de agentes terapéuticos. Algunas áreas que han atraído más atención incluyen la naturaleza de la interacción de solutos con liposomas, los factores que gobiernan la ratio y lugar de absorción de liposomas en administraciones in vivo, el mecanismo de absorción de liposomas por las células y las propiedades inmunológicas de los liposomas.

### ***Ventajas y desventajas de los liposomas de primera generación***

Como todo, al principio era difícil "jugar" con estos liposomas, debido al desconocimiento de muchas de sus propiedades y características, pero con el tiempo y muchos años de investigación se han conseguido grandes progresos. Empezaremos por los problemas que daban estos primeros liposomas:

#### Desventajas primeros liposomas

- Las moléculas atrapadas se fugaban de la membrana del liposoma → para evitarlo se le añadieron colesterol y esfingolípidos.

- Una fagocitosis rápida del hígado y el bazo reducían la distribución e incrementaban la toxicidad → al añadir colesterol y esfingolípidos aumentó la circulación de los liposomas. También influyó la adición de polietilenglicol, que ayudó a estabilizar las membranas.
- El transporte pasivo sólo funcionaba para ciertos tipos de fármacos y otros requerían de un receptor que mediara la endocitosis → ahora se le pueden añadir anticuerpos a los liposomas con polietilenglicol para permitir la endocitosis de los contenidos liposomales mediada por receptor.
- Era difícil desencadenar la liberación de los contenidos liposomales → los desencadenantes actuales son remotos como el calor o la luz, o pueden ser intrínsecos como los enzimas o el cambio en el Ph.

#### Desventajas actuales

- Baja solubilidad.
- Tiempo de vida relativamente corto.
- Algunas veces los fosfolípidos sufren reacciones de oxidación e hidrólisis.
- El coste de producción es alto.

#### Ventajas

- Los liposomas incrementan la eficacia y el índice terapéutico de los medicamentos (en general).
- Aumentan la estabilidad por encapsulación.
- No son tóxicos, son flexibles, biocompatibles, completamente degradables y no son inmunogénicos.
- Reducen la toxicidad de los agentes encapsulados (taxol, Anfotericina B...).
- Ayudan a reducir la exposición de los tejidos sensibles a medicamentos tóxicos.
- Son flexibles para acoplarse al sitio específico al que se une el ligando.

#### ***¿Para qué sirven los liposomas?***

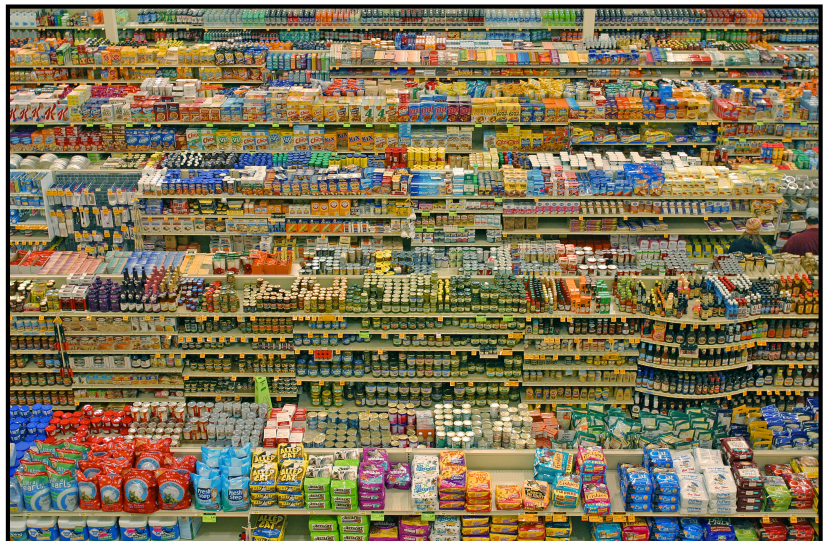
Cinco décadas de investigación en el campo de los liposomas ha mostrado beneficios en el mundo médico, pero también en el que tiene que ver con los cosméticos y la industria alimentaria:

1. **En medicina**, se sabe que los liposomas son una herramienta poderosa para el tratamiento de enfermedades. Su habilidad para atrapar, secuestrar y transportar moléculas terapéuticas ya sea a un sitio específico del cuerpo o liberar su contenido en

condiciones fisiológicas ha hecho que se usen como tratamiento. Por ello, las investigaciones se encaran en mejorar la manera de utilizarlas, mediante el estudio de sus propiedades físico-químicas. Algunos liposomas se han diseñado para contener inmunógenos específicos que se han probado en el tratamiento del cáncer. Otros, además, se han usado para el transporte dérmico y transdérmico de componentes activos y también de manera oral, entre otros tenemos: analgésicos, anti-inflamatorios, anti-arrugas, insulina, anti-cancerígenos y pomadas contra el acné. Finalmente hay muchos estudios sobre encapsular y transportar material genético, a lo que nos llevaría a hablar de terapia génica (así hay menos susceptibilidad a la degradación por parte de nucleasas o ARNnucleasas).

2. **En cosmética:** El primer producto cosmético que contenía este ingrediente de cuidado de piel fue creado en 1986. Desde entonces muchos más productos que contenían liposomas fueron saliendo al mercado. En las formulaciones cosméticas son usados como un sistema de transporte: llevan el agente activo a las capas de la epidermis, donde es absorbido donde es requerido. La facilidad de absorción que viene con estas esferas aumenta la efectividad de los productos de cuidado de la piel y también reducen el precio de los ingredientes. La efectividad de este ingrediente en cosmética varía dependiendo del tamaño y cantidad. En el cuidado de piel actual se usan los liposomas más pequeños por lo que pueden entrar con más profundidad en la piel y transportan los ingredientes activos durante más tiempo. Para conseguir esto, las compañías de cosmética necesitan manipular materiales a nivel atómico (uso de nanotecnología). Los mayores beneficios de tener estas pequeñas estructuras en los productos de cosmética deriva de su ayuda en la absorción en la piel. Se llenan de ingredientes anti-edad como la coenzima q10 (gran antioxidante), extractos de aloe vera y vitaminas como la E. De hecho, los liposomas pueden transportar casi cualquier cosa: vitaminas solubles, amino-ácidos u otros creados químicamente.

3. **En la industria alimentaria:** La mayoría de las técnicas de micro-encapsulación que se usan actualmente en la industria alimentaria están basadas en matrices de biopolímeros compuestos de azúcares, proteínas, dextrinas, etc. Sin embargo, los liposomas han empezado a cobrar importancia. Se le añaden liposomas para mejorar, por ejemplo, la producción de queso (se ha demostrado que aumentan la elasticidad y cohesión de éste), reduciendo su tiempo de producción a la



*Diversos tipos de alimentos en una estantería de supermercado.*

[https://es.wikipedia.org/wiki/Alimento#/media/File:Fredmeyer\\_edit\\_1.jp](https://es.wikipedia.org/wiki/Alimento#/media/File:Fredmeyer_edit_1.jp)

vez. Otra utilidad es encapsulando vitaminas para añadirlas a la comida, ya que se ha demostrado que éstas quedan protegidas de la degradación y cuando llegan al estómago los liposomas se degradan dejándolas libres y dejando que las absorbamos. Además, la adición de liposomas con intención de proteger a los nutrientes contra la degradación es algo que se utiliza desde hace años. Por último, también se añaden agentes antimicrobiales encapsulados como por ejemplo lisozima o nisina Z. Actualmente se investiga también usar liposomas para inducir una digestión lenta de comida por parte de los intolerantes a la lactosa.

### **Tipos de liposomas**

El tamaño de los liposomas puede variar desde vesículas muy pequeñas (0,025  $\mu\text{m}$ ) hasta de otras más grandes (2,5  $\mu\text{m}$ ). Además, los liposomas pueden tener una o más bicapas. El tamaño de la vesícula es un parámetro exacto para determinar la vida media de circulación de los liposomas y tanto el número como tamaño de las bicapas afectan la cantidad de fármaco encapsulado en los liposomas. A partir de tu tamaño y número de bicapas, los liposomas son clasificados también en una de las siguientes dos categorías: (1) Vesículas multilaminares (MLV) y (2) Vesículas Unilaminares (UV). Dentro de las UV encontramos dos categorías más: las (3) Vesículas Unilaminares Grandes (LUV) y las (4) Vesículas Unilaminares Pequeñas (SUV). En los liposomas unilaminares la vesícula sólo es una esfera hecha de una sola bicapa de fosfolípidos mientras que en los liposomas multilaminares tienen una estructura como la de una "cebolla", es decir, diversas vesículas unilaminares formarán dentro de otra una estructura de esferas concéntricas separadas por capas de agua.

Según la Food and Drug Administration (FDA) hay dos tipos diferenciados de liposomas, los convencionales y los no convencionales:

<b>Convencionales</b>	<b>No Convencionales</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ Preparados de forma neutral y con lípidos aniónicos.</li> <li>❖ Tienen interacciones no específicas con su entorno.</li> <li>❖ Relativamente inestables, tienen capacidades de transporte bajas.</li> <li>❖ Se desbaratan cuando entran en contacto con el plasma.</li> <li>❖ Se les añade colesterol para incrementar la estabilidad en plasma.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ Tamaño pequeño.</li> <li>❖ Modificados para reducir la carga negativa y hacerlos resistentes a la fagocitosis.</li> <li>❖ Propiedades alteradas.</li> <li>❖ Liposomas polimerizados más estables.</li> <li>❖ Adición de polietilenglicol.</li> </ul>

Aunque es una clasificación válida, aquí en Europa se sigue más bien la primera que hemos visto.

## Conclusión

Las aplicaciones de los liposomas como sistemas de transporte son numerosos por el hecho de que son versátiles: tienen facilidad para hacerles modificaciones químicas, la habilidad de transportar fármacos o genes de diferentes tipos y el potencial para ser administrados por diferentes rutas los han hecho especialmente atractivos. La habilidad de transportar medicamentos de forma segura a un sitio concreto o incluso causar liberación desencadenada por factores concretos es la guinda del pastel en el sector de la medicina terapéutica. Ciertamente se ha observado un gran avance desde su descubrimiento en 1965. ¿Hasta dónde llegarán sus aplicaciones? Lo descubriremos en los próximos años.

## Entrevista a la Dra. Margarita Mora y a la Dra. M<sup>a</sup> Lluïsa Sagristà

**Adrià: ¿Cómo os conocisteis y porque decidisteis trabajar juntas?**

**Dra. Margarita Mora:** Es que esto ya es muy antiguo. Nosotras ya hicimos la tesis en el departamento de bioquímica de la facultad de química. Nos llevamos 5 años, empecé la tesis 5 años antes que ella y al acabar la tesis, al cabo de un tiempo, llegó un profesor, el doctor Rivera, que venía de la universidad de palma de Mallorca, donde había sido rector, entonces yo en aquel momento estaba sola, había acabado la tesis y estaba escribiendo los "papers" y me ofrecieron ponerme a trabajar con él. Al cabo de un año, le hizo la misma oferta a Maria Lluïsa, y las dos nos pusimos a trabajar con el doctor Rivera y su mujer que ahora ya está jubilada. Estamos hablando del 86. El Dr. Rivera por desgracia falleció, la Dra. magariaga se puso de directora del grupo y siempre hemos trabajado junta además con el Dr. Domingo.

**Adrià: ¿A qué os dedicáis en el departamento en general?**

**Dra. Margarita Mora:** Bueno, como todo el mundo en el departamento tenemos nuestras tareas docentes y nuestra parte de investigación. Entonces, las tareas docentes ahora actualmente se centran en la enseñanza de la asignatura de química en los grados de biotecnología, ciencias biomédicas y biología y la parte de investigación seguimos la líneas actuales que se centran pues fundamentalmente en el desarrollo de nanosistemas o sistemas nanoparticulados para la vehiculización de fármacos. Trabajamos con un grupo del instituto químico de Sarrià con un grupo de la universidad autónoma de Madrid desde el 2007.

**Adrià: ¿Porqué los liposomas?**

**Dra. Margarita Mora:** El Dr. Rivera inició la línea de investigación. Era una persona extraordinariamente válida y venía con sus ideas sobre estudios de unos lípidos especiales sintetizados en las membranas biológicas en respuesta a determinados estímulos producidos por algún estrés fisiológico y entonces estudiamos la parte teórica sintetizando estos lípidos para luego ver como se comportaban o qué efecto tenía o podía tener la incorporación de los mismos en las membranas biológicas y como sistema modelo elegimos los liposomas que es un sistema totalmente validado para el estudio de todas las propiedades relacionadas con estructura y dinámica de membranas. Todo desde un punto de vista teórico.

**Dra. Maria Lluïsa Sagristà:** Estudiábamos como influía la incorporación de estos lípidos en las membranas, en sus propiedades de permeabilidad y de fusión, características fusiogénicas de los liposomas y empezamos así y después ya derivamos a utilizar los liposomas como sistemas de transporte de fármacos.

**Dra. Margarita Mora:** Ha sido una evolución en el tiempo, hemos pasado de una investigación básica teórica a una investigación aplicada, pero es que aprendimos muchas técnicas para el trabajo con membranas y por lo tanto aplicables al trabajo con liposomas, aprendimos también que la adición de determinados lípidos como estos de los que hablábamos pues proporcionaba características especiales a las membranas que podían resultar útiles para la preparación de liposomas, por ejemplo los liposomas eran más estables, menos permeables, lo cual es bueno cuando tú quieres encapsular algún fármaco porque la capacidad de retención



es mayor y ha sido una evolución desde el año 86 que nos proporcionaron el primer proyecto dentro del área de fisiología. 30 años hasta ahora.

**Adrià: ¿Qué es lo difícil de trabajar con estas nanopartículas?**

**Dra. Margarita Mora:** ¿Difícil? Claro, cuando llevas tantos años tampoco es tan complicado. Ha sido un trabajo que ha evolucionado, al principio fue muy teórico. Al inicio era sobre la preparación de liposomas y algún estudio sobre propiedades de permeabilidad, fluidez, termodinámica de las membranas, temperaturas de transición... luego empezamos a trabajar con líneas celulares, cuando encapsulas un fármaco has de valorar la eficacia, posibilidades y potencial de la formulación que tu desarrollas. Trabajamos con líneas celulares, pusimos a punto nuevas metodologías para valorar la eficacia, no hay nada especialmente complicado. Has de ser especialmente consciente y esto hay personas que no lo entienden que cada liposoma es único en sus características y en sus capacidades para vehiculizar un fármaco determinado, hay personas que no lo entienden, les da igual, tu preparas liposomas y les da igual ponerle ofloxacina o un fotosensibilizador. Y eso no es así, cada molécula, cada fármaco, es un mundo, y cada liposoma tiene que conocer a esta molécula e incorporarla eficientemente. Es un aspecto que muchas personas no entienden, doctorandos que han trabajado con nosotras finalmente lo han entendido porque la metodología no es la misma ni muchos parámetros son iguales. Esta sería la parte difícil entre comillas, pero la parte bonita de la investigación: al final conoces las moléculas de un lado y de otro (del transportador y del fármaco) y eres capaz casi con los ojos vendados de formular aquel liposoma ideal para aquel fármaco. Yo creo que hemos llegado a ese grado de conocimiento, a esa capacidad de poder predecir el comportamiento del conjunto y a poder pasar casi directamente al estudio de su aplicabilidad. Yo creo que estamos trabajando bastante sobre seguro en el tema de formulación y obteniendo resultados bastante buenos de cara al futuro, tanto de terapia fotodinámica como en quimioterapia normal.

**Dra. Maria Lluïsa Sagristà:** En este sentido tuvimos una discusión con dos agentes de patentes porque queríamos patentar un preparado liposomal y nos decían que no, que los liposomas ya estaban patentados, pero no, nosotros no queríamos patentar los liposomas, queríamos patentar una formulación liposomal para un fármaco en concreto y no hubo manera. Y después claro, realmente mirabas las patentes y patentaban la preparación de una formulación liposomal para un principio activo y luego te ponía como coletilla “y los liposomas se pueden preparar también con estos lípidos y con estos otros” y tú sabes que no, porque según los lípidos que pongas y las características que tengan estos lípidos con los que vas a formar la membrana del liposoma un fármaco determinado de unas características específicas y se incorporará o no. No sirve cualquier cosa.

**Adrià: jugaban con eso para que nadie más pueda patentar...**

**Dra. Maria Lluïsa Sagristà:** ¡Pero no es cierto! Tienes una formulación lipídica para preparar unos liposomas y encapsulas muy bien un compuesto, pero intentas incorporar otro compuesto que no tiene las mismas características químicas y o no se te incorpora o lo hace con una eficiencia menor... tienes que ir cambiando las composiciones de las membranas, no puedes encapsular todo con cualquier composición de la membrana lipídica.

**Adrià:** Tengo entendido que os llaman para ir a congresos de índole europea e internacional.

**Dra. Margarita Mora:** La verdad es que últimamente nos están ofreciendo muchas participaciones muchos congresos como “speakers”, o sea, no es aquello de voy a un congreso y les mandas un póster, lo cual nos ha llenado de satisfacción porque en estos últimos años el grado de conocimiento de nuestra investigación en el exterior ha aumentado bastante. A veces tienes la suerte de tu lado porque sacamos una publicación especialmente interesante para el mundo y nuestro entorno científico. Hicimos una publicación en una revista de impacto importante y desde entonces que nos están ofreciendo asistencia a congresos en plan de dar conferencias, participación o envío de “papers” de revistas que están ahora iniciándose que buscan normalmente personas que se les conozca algo para lanzarse en el mundo de la publicación científica, ser editoras de libros, etc.

**Adrià:** ¿Y porqué no os habéis entregado al 100% a hacer todo esto?

**Dra. Margarita Mora:** La desgracia es que no podemos asistir a estos congresos por falta de financiación. Tenemos financiación para la investigación desde el primer proyecto, nunca hemos perdido una convocatoria. Ahora, una cosa es tener dinero para la investigación y otra tener dinero para lo que podría ser una promoción científica, una proyección que no hemos podido tener porque entre escoger utilizar el dinero para el día a día de tu investigación o ir por ahí a promocionarte y participar en congresos y tal hemos escogido como es lógico lo primero. La universidad no te da más. Hoy leía que la universidad de Barcelona en uno de estos rankings está la primera de todas las españolas y yo digo: debe estar orgullosa la UB, pero debería hacer una reflexión, de hecho debería hacerla mucha gente, del esfuerzo que están haciendo sus trabajadores de personal docente e investigador para que la UB ocupe esta posición, esfuerzo tanto en el área de docencia como en el área de investigación, se les llena la boca diciendo somos tan buenos pero no te dan demasiadas facilidades como en otras universidades extranjeras.

**Adrià:** Volviendo a nuestro tema, ¿Cuál es el futuro de los liposomas?

**Dra. Margarita Mora:** Como son como nuestros hijos nosotras le vemos mucho futuro, pero realmente si tú miras las gráficas de las publicaciones relacionadas con ellos de los últimos años las conclusiones que sacas es que tienen mucho futuro.

**Adrià:** Se usan en industria alimentaria, en cosmética, medicina...

**Dra. Margarita Mora:** ¡Tienen pocos efectos secundarios!

**Adrià:** ¿Actualmente en qué estáis trabajando?

**Dra. Margarita Mora:** Pues progresando en la utilización de liposomas y otros nanosistemas particulados: nanopartículas de sílice, nanopartículas poliméricas, micropartículas de oro, sistemas magnéticos que también son muy interesantes porque tienen la ventaja de que si los diriges a un lugar específico al aplicar un campo magnético es cuando puedes conseguir que ejerzan su actuación, es una idea parecida a la terapia fotodinámica, aunque totalmente diferente en su concepto. Nuestro centro, sin embargo, son los liposomas y van a serlo, creo, para toda la vida. Hemos buscado alternativas, hemos visto que hay opciones igualmente

válidas, pero de momento ninguna nos ha demostrado que sea mejor, entonces siempre los tenemos ahí comparándolos con otros transportadores. Ahora estamos usando sistemas bimodales, la idea es introducir fármacos que actúan mediante mecanismos diferentes en el mismo transportador para que se sumen los efectos y hemos demostrado que estos efectos no son simplemente aditivos, sino que son sinérgicos.

**Bibliografía:**

V.P. Torchilin, Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers, *Nat, Rev. Drug Discov.* 4 (2005) 145-160.

Wafa' T. Al-Jamal; Kostas Kostarelos, Liposomes: From a Clinically Established Drug Delivery System to a Nanoparticle Platform for Theranostic Nanomedicine. *Accounts of Chemical Research*, 1094 – 1104, 2011, vol. 44, No.10.

Charlene M. Dawidczyk; Chloe Kim; Jea Ho Park; Luisa M. Russell; Kwan Hyi Lee; Martin G. Pomper; Peter C. Searson, State-of-the-art in design rules for drug delivery platforms: Lessons learned from FDA-approved nanomedicines. *Journal of Controlled Release*, 187 (2014), 133-144.

Bhushan S. Patti; Vladimir V. Chupin; Vladimir P. Torchilin, New Developments in Liposomal Drug Delivery, *Chemical Reviews*, 2015, 115, 10938-10966.

Abolfazl Akbarzadeh; Rogaie Rezaei-Sadabady; Soodabeh Davaran; Sang Woo Joo; Nosratollah Zarghami; Younes Hanifehpour; Mohammad Samiei; Mohammad Kouhi; Kazem Nejati-Koshki, Liposome: Classification, preparation, and Applications. *Nanoscale Research Letters*, 2013, 8:102.

Yogita P. Patil; Sameer Jadhav, Novel Methods for liposome preparation. *Chemistry and Physics of Lipids* 177 (2014), 8-18.

Federico Perche; Vladimir P. Torchilin, Recent Trends in Multifunctional Liposomal Nanocarriers for Enhanced Tumor Targeting. *Journal of Drug Delivery*, 2013, 705265.

María García-Díaz; Santi Nonell; Ángeles Villanueva; Joan C. Stockert; Magdalena Cañete; Ana Casadó; Margarita Mora; M. Lluïsa Sagristà, Do folate-receptor targeted liposomal photosensitizers enhance photodynamic therapy selectivity?. *Biochimica et Biophysica Acta* 10808, 2011, 1063-1071.

Maria García-Díaz; Mosayoshi Kawakubo; Pawel Mroz; M. Lluïsa Sagristà; Margarita Mora; Santi Nonell; Michael R. Hamblin, Cellular and vascular effects of the photodynamic agent temocene are modulated by the delivery vehicle, *J Control Release*, 2012 September 10, 162, 355-363.

Ana Casadó; M. Lluïsa Sagristà; Margarita Mora, Formulation and In Vitro Characterization of Thermosensitive Liposomes for the Delivery of Irinotecan, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2014, 103: 3127-3138.

María E. Alea-Reyes; Mafalda Rodrigues; Albert Serrà; Margarita Mora; Maria L. Sagristà; Asensio González, Sara Durán; Marta Duch; José Antonio Plaza; Elisa Vallés; David A. Russell; Lluïsa Pérez-García, Nanostructured materials for photodynamic therapy: synthesis, characterization and in vitro activity. *RSC Adv*, 2017, 7, 16963-16976.

[https://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/ac/01/briefing/3763b2\\_03\\_bibliography-K/sld014.htm](https://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/ac/01/briefing/3763b2_03_bibliography-K/sld014.htm)

[http://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=1243#\\_What\\_are\\_the\\_Different\\_Types\\_of\\_Lip](http://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=1243#_What_are_the_Different_Types_of_Lip)