

LA NANOMEDECINE, SES APPLICATIONS POSSIBLES EN SANTÉ ANIMALE, LE POINT DE VUE DES INDUSTRIELS

NANOMEDECINE, ITS POTENTIAL APPLICATIONS IN ANIMAL HEALTH, THE INDUSTRIAL POINT OF VIEW

Par Jean DELAVEAU⁽¹⁾

(Communication présentée le 7 mars 2013)

RÉSUMÉ

La recherche pharmaceutique en nanomédecine est intense. L'innovation est menée essentiellement dans les secteurs de l'oncologie et des maladies virales (HIV). Bien que l'activité en nanomédecine soit déjà courante dans les vaccins et que les aspects réglementaires couvrent déjà tous les risques envisagés, la réglementation européenne oblige désormais les acteurs travaillant avec des objets de tailles situées dans la gamme 1-100 nm à déclarer leur activité. Les applications pour la santé animale permettront d'abaisser le niveau de toxicité des principes actifs, d'améliorer leur solubilité, leur durée d'action et, pour les vaccins, de construire des objets pour améliorer les réponses immunitaires. Même si les coûts sont actuellement le principal frein, des développements prometteurs sont attendus dans les prochaines années.

Mots-Clés : nanomédecine, nanoparticules, nanoencapsulation, nanotechnologies, médecine vétérinaire, vaccins.

SUMMARY

The pharmaceutical research in nanomedicine is quite intense. The innovation is essentially occurring in oncology and viral vaccines (HIV). Although the activity in nanomedicine currently existed for vaccines and the Regulatory Requirements already cover all the possible risks, the European Regulation now requires for all actors working with objects in the range of 1-100 nm to declare their activity. The applications for animal health will allow lowering the level of toxicity of the active principles, improve their solubility, their duration and for vaccines to build objects that will improve the immune responses. Although the costs are the main hindrance, new promising developments are awaited in the coming years.

Key words: Nanomedicine, Nanoparticles, Nanoencapsulation, Nanotechnologies, Nanomedicine Safety, Veterinary Medicine, Vaccines.

INTRODUCTION

L'activité de recherche pharmaceutique en nanomédecine (définition : **tableau 1**) est intense. La **figure 1** indique le nombre annuel de publications correspondant à la recherche bibliographique à l'aide des mots clés suivants : « Nanomedicine, Nanoparticles, Nanoencapsulation, Nanotechnology, Nanomedicine Safety, and Veterinary medicine, Vaccines » sur la période 2002-2012. Sur un total de 1206 documents, la progression a été très importante de 2006 à 2008. Le nombre de publications semble avoir

atteint, pour ces mots clés, un plateau de 150 à 200 références par an. Parmi ces publications, très peu concernent directement la santé animale : leur nombre annuel est inférieur à 10 et elles traitent essentiellement de vaccins, de solubilisation et de libération prolongée de principes actifs.

Si on regarde la répartition par discipline de ces publications, on obtient une indication des secteurs d'intérêt de la recherche dans ce domaine (**figure 2**). L'oncologie est le principal secteur d'activité en nombre de publications suivi par des études plus générales sur les encapsulations par des polymères.

(1) Merial Discovery and Research, Sanofi Animal Health, 254 rue Marcel Mérieux, 69007 Lyon, 33 4 72 72 32 75, jean.delaveau@merial.com.

Le concept a été décrit par Richard Feynman, prix Nobel de physique en 1959
et le terme nanotechnologie a été conçu par le professeur Norio Taniguchi en 1974.

La nano médecine se caractérise par un changement d'échelle (Fig 3) : les nano objets sont des constructions à l'échelle du nanomètre soit le millième de micron. En réduisant la taille, la surface spécifique permet une plus grande réactivité de la molécule et un plus grand nombre de molécules deviennent disponibles pour entrer en contact avec les récepteurs. Les nano-objets finissent par se confondre avec l'environnement des cellules vivantes et à se rapprocher des structures qui les composent.

La multiplicité des constructions possibles permet une très grande spécificité de mode d'action de ces objets et une similitude avec les modes d'action biologiques comme celui des anticorps.

Par une formulation mieux adaptée, la nanomédecine vise spécifiquement la cible et réduit en conséquence la quantité de produit à formuler.

Les premiers travaux ont été conduits en cancérologie mais les retombées touchent désormais tous les secteurs de la santé comme les produits pharmaceutiques, les vaccins, les diagnostics ou l'imagerie médicale.

Tableau 1 : définition de la nanomédecine.

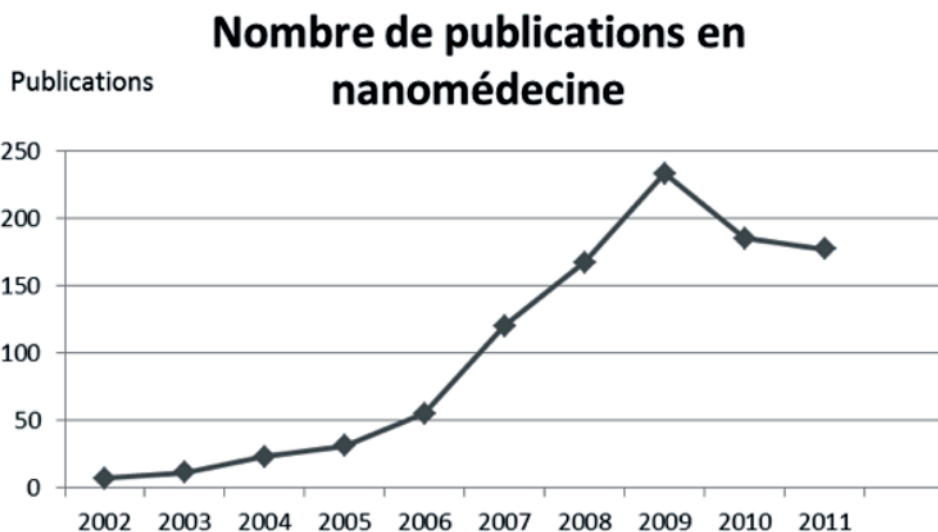


Figure 1 : nombre de publications en nanomédecine.

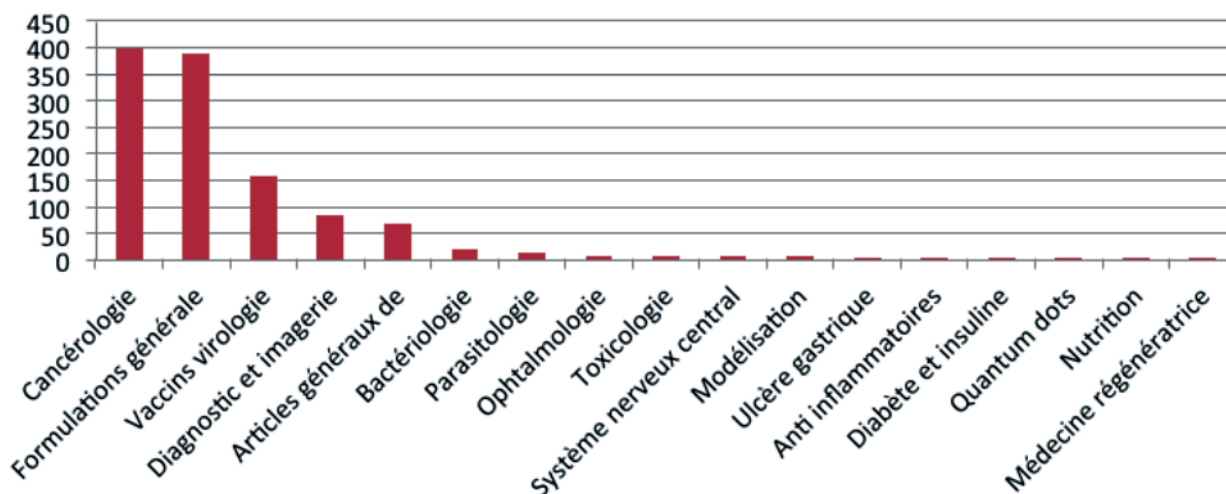


Figure 2 : répartition par disciplines des publications en nanomédecine des dix dernières années.

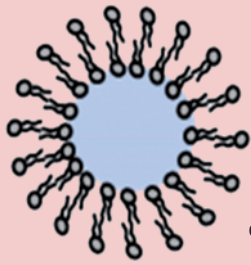
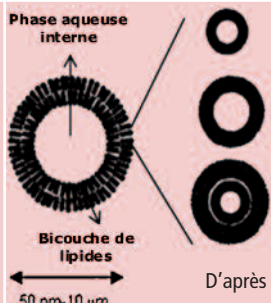
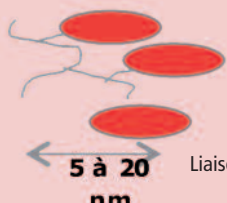
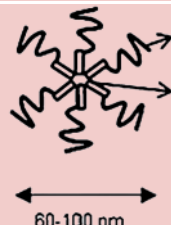
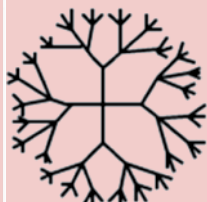
Composition des nano-objets	Définition	Applications	Apparence	Perspectives
Inorganiques	Céramiques, carbone, silice ou métaux comme or, argent ou fer et fer magnétisé.	Grande stabilité aux conditions extrêmes : pH, température.	Particules	Peu d'avenir en raison de la toxicité
Liposomes	Vésicules composés d'une ou de plusieurs couches de phospholipides enfermant un cœur hydrophile	Cosmétique. Solutions injectables. Ne conviennent pas pour les formes orales. Oncologie, vaccins.	 <p>50-200 nm d'après Underwood et al., 2012</p>	Coûts élevés, réactions inflammatoires possibles. Avenir limité.
Nanoparticules de lipides solides	Nanoparticules solides à 25°C formulées avec un tensio-actif dans un soluté aqueux. SLN en Anglais (Solid Lipid Nanoparticles).	Formes injectables, voies orales, topicales, IM, IV, SC. Stables et avec peu de toxicité. Franchissent la barrière du cerveau, libération en plusieurs semaines.	 <p>Simple couche lipidique Double couche lipidique Multiple couche lipidique D'après Irache et al., 2011</p>	Stables et robustes, ils remplacent progressivement les liposomes.
Nanoémulsions	Dispersion de phase aqueuse et lipidique maintenue à l'équilibre par des tensio actifs.	Formes injectables. Vaccinations, formes pharmaceutiques		Peu onéreux, fabrication simple et robuste. En développement.
Polymères en liaison covalente avec des principes actifs	Polymère biodégradable et soluble dans l'eau lié à une matière active.	Formes injectables, oncologie, augmentation de la perméabilité et la rétention des produits	 <p>5 à 20 nm Liaison covalente polymère et matière active</p>	En développement pour l'oncologie, en relation avec les nouveaux polymères.
Micelles de polymères	Association de segments de polymères amphiphiles dans l'eau au-delà de la valeur critique d'assemblage.	Les matières actives sont incluses au cours de la formation puis libérées. Formes injectables, complexation avec de l'ADN.	 <p>60-100 nm Micelle de polymère D'après Irache et al., 2011</p>	Nombreux développements en génie génétique et oncologie.
Dendrimères	Architectures de polymères de forme régulière.	Thérapie génique, vaccination.	 <p>Dendrimères 100-200 nm D'après Underwood et al., 2012</p>	Applications en développement pour le génie génétique et les vaccins.

Tableau 2 : classification des nano-objets selon leur composition.

Parmi ceux-ci le chitosan, un polymère naturel proche de la chitine et le PLGA (acides polylactiques et glycoliques) sont les plus fréquemment cités. Ensuite viennent de nombreuses études de vaccins en virologie (vaccins expérimentaux contre le HIV) et des applications en imagerie médicale.

Le **tableau 2** rappelle les définitions des nano objets tels qu'ils apparaissent dans les publications.

La **figure 3** montre les échelles relatives des objets et permet de situer sur une échelle logarithmique les dimensions d'objets familiers vis-à-vis des nano-objets. La réduction de la taille permet d'augmenter de façon considérable la surface relative des nano-objets, du fait de l'augmentation plus rapide de la surface vis-à-vis du volume et de la notion de **géométrie fractale** qui prend toute sa force dans la miniaturisation. Un espace fractal peut être défini comme une figure géométrique qui se subdivise à l'infini en reprenant sa forme de base miniaturisée. Des exemples sont connus dans la nature comme la feuille d'une fougère, les vaisseaux sanguins ou la surface d'un poumon qui se subdivise jusqu'à la dimension donnée par le libre parcours d'une molécule d'oxygène à température du corps.

Cette échelle relative permet de mieux comprendre les relations des objets entre eux. En réduisant leur taille, les objets acquièrent une surface spécifique beaucoup plus élevée ce qui leur confère des propriétés nouvelles telles qu'une biodisponibilité beaucoup plus élevée, ce qui permet de reconsidérer des matières actives, anciennes ou nouvelles, rejetées à cause de ce critère. Le phénomène est appelé en Anglais « enhanced permeability and retention effect » (EPR) (Maeda 2010). La nanoparticule peut être couplée à un agent de liaison qui lui donnera une spécificité de liaison vis-à-vis de la cible, augmentant par voie de conséquence son efficacité et réduisant l'impact sur d'autres cibles : c'est le cas des agents anticancéreux (Goutayer *et al.*, 2010). Le changement influe également sur la pharmacocinétique (Mura *et al.*, 2012 ; Liu *et al.*, 2007). Des molécules formulées en nanoparticules verront leur absorption et leur distribution modifiées vers les cibles thérapeutiques ouvrant ainsi la voie à d'autres possibilités thérapeutiques. Il est également attendu un meilleur profil toxicologique car moins de substance sera distribuée sur les sites non ciblés. À cette échelle, il devient aussi possible d'envisager des nano-objets qui cibleront

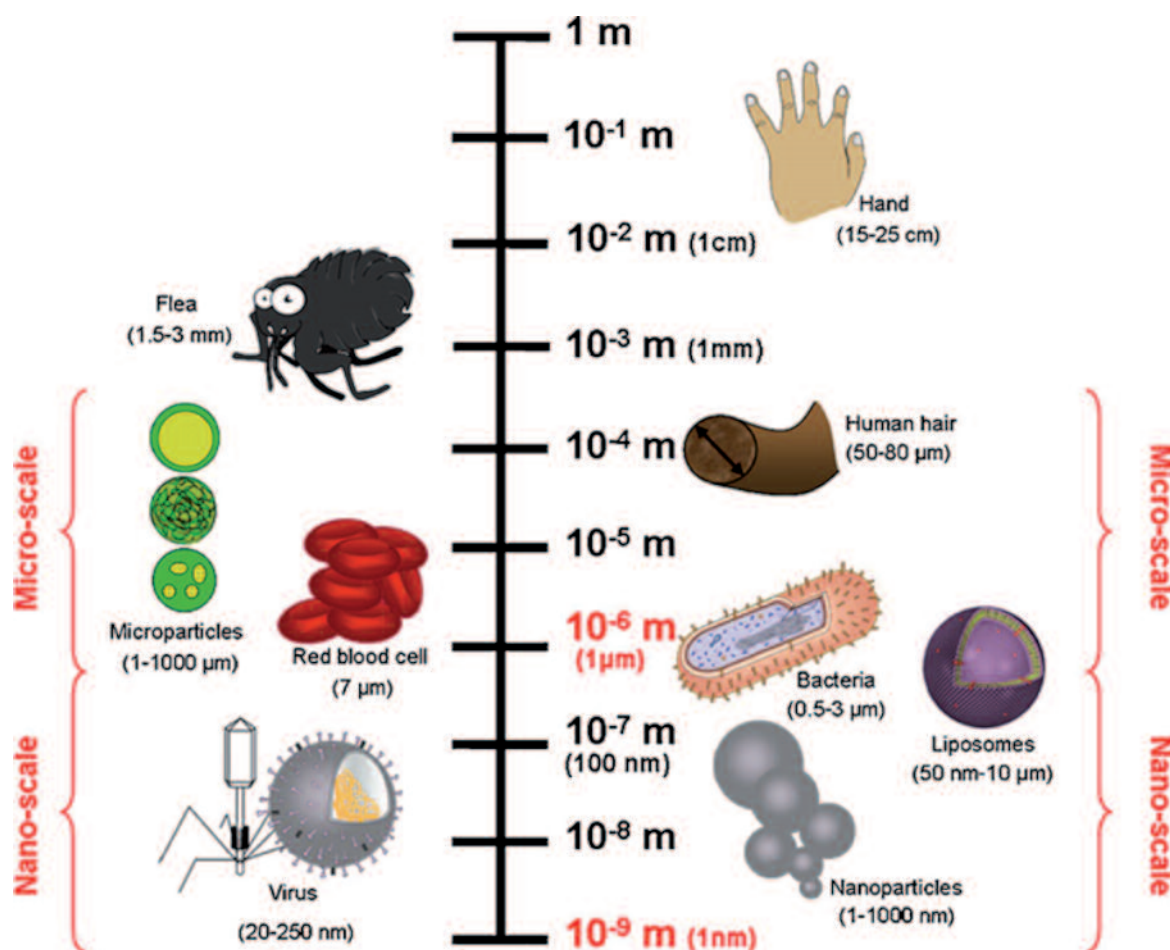


Figure 3 : Échelle donnant les dimensions respectives des objets en nanomédecine (d'après Irache *et al.*, 2011).

des cellules malades *via* des ligands spécifiques, comme c'est déjà le cas en oncologie.

Un grand nombre d'applications s'ouvrent donc en santé animale et pourraient se développer à partir des résultats acquis en médecine humaine.

ASPECTS RÉGLEMENTAIRES ET SÉCURITÉ

La sécurité de la fabrication et de la transformation des nano-objets est désormais considérée avec attention par les autorités de tutelle.

Pour la fabrication et la transformation, la réglementation classe en nano-objets toute particule dont la taille est comprise entre 1 et 100 nm. Cette classification sous-entend une surface spécifique supérieure à 60 m²/cm³. La classification s'applique à tout produit dont 50% des particules entrent dans cette fourchette. Ces informations sont précisées par la directive de la commission européenne publiée au Journal Officiel de l'Union Européenne : L275/38 du 20.10.2011. Ainsi tout producteur, transformateur ou transporteur doit déclarer son activité auprès du ministère de tutelle. Il est important de noter que dans des domaines comme la vaccinologie, la notion de nano-objet est déjà familière aux autorités puisque les nano émulsions, les nano particules comme les virus sont couramment utilisés depuis de nombreuses années dans les formulations vaccinales.

Plusieurs organismes européens ont statué sur l'évaluation des risques pour les nanotechnologies (SCENIHR, SCCS, EFSA et l'EMA²).

Des matériaux tels les nanotubes de carbone, bien que de taille supérieure à 100nm, sont considérés comme nano particules et doivent faire l'objet d'une déclaration auprès du ministère de tutelle de l'entreprise.

Actuellement, 20 formulations médicinales contenant des nano-objets et trois produits en contact direct avec des aliments sont autorisés.

Une forte volonté d'harmonisation et de standardisation se met en place au sein de l'Union Européenne. Ces objectifs sont prioritaires pour la Commission européenne au même titre que les procédures REACH déjà en cours. Une étude initiée par la Commission en 2011 concernant les risques, le devenir des nanomatériaux dans l'environnement et dans les déchets apportera un éclairage complémentaire utile pour établir une législation dans ce domaine. Des recommandations sont attendues pour 2014. Par ailleurs, l'ECHA (European Chemical Agency) a constitué un groupe d'experts (GARRN : Group Assessing Already Registered Nanomaterials) pour évaluer la sécurité des produits déjà existants. L'une des recommandations des experts du comité de pilotage (ACSHW : Advisory Committe on Safety and Health at Work) est de présenter des

textes législatifs en 2014 recouvrant les domaines de la santé et de la réglementation au travail des nanotechnologies. D'ores et déjà, l'EFSA, à la demande de la Commission, a adopté un document guide pour la déclaration d'usage des nanomatériaux dans l'alimentation humaine et animale. Un site internet a été mis en place pour répondre aux questions. La Commission a aussi initié une étude d'impact pour faciliter la transparence et les échanges sur le sujet.

Désormais, la réglementation prend donc en compte l'évaluation des nano-objets dans l'intégralité des aspects de sécurité.

EXEMPLES D'APPLICATIONS DE LA NANO MÉDECINE EN SANTÉ HUMAINE ET ANIMALE

Formulations pharmaceutiques

Les premières applications de la nano médecine ont concerné les traitements anticancéreux. La formulation d'agents anticancéreux au moyen de liposomes ou de nano encapsulation permet d'apporter une meilleure observance, un traitement plus efficace et mieux ciblé en jouant sur les cinétiques de libération et une réduction des effets secondaires, ce qui améliore l'indice thérapeutique. À l'avenir, des formulations anticancéreuses injectables héritées des applications humaines pourraient voir le jour en santé animale. Il pourrait s'agir de liposomes contenant de la doxorubicine pour le traitement du lymphome, le paclitaxel pour le traitement du cancer des ovaires (Huynh 2009 ; Koudelka et Turanek, 2012). D'autres auteurs ont réussi à réaliser des formulations orales à libération prolongée de Docetaxel à base de polymères biodégradables. Ces polymères composés d'acide polylactique coglycolique associés à la vitamine E et à de la montmorillonite ont un temps de libération de trois semaines comparé à 22 heures pour l'administration i.v. de la matière active seule (Si-Shen *et al.*, 2009).

D'autres exemples ouvrent des perspectives en santé animale pour augmenter la durée d'administration sans augmenter les quantités administrées :

- Dans un modèle sur souris, une formulation d'enrofloxacin à base de nanoparticules de lipides solides pour un produit injectable (i.m.) a donné des temps de libération de deux à six fois plus longs soit de 10 à 180 heures (Xie *et al.*, 2011).
- En utilisant le lapin comme modèle, la silice nanoporeuse permet une libération prolongée d'antibiotiques dans le traitement de l'otite chronique de l'oreille moyenne (Lensing *et al.*, 2013).
- En utilisant le rat comme modèle d'étude de l'arthrite, le polymère PEG-PLA lié à de la bétaméthasone sous forme de nanoparticule lyophilisée, minimise la réponse inflammatoire. La durée de libération est de 14 jours (Ishihara *et al.*, 2010).

(2) Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks, Scientific Committee on Consumer Safety, European Food and Safety Agency, European Medicinal Agency.

- Dans un modèle souris, une encapsulation de gentamycine à base de liposome sensible au pH augmente la puissance antibactérienne d'un facteur 104 (Cordeiro *et al.*, 2000).
- Chez le rat, une formulation orale de praziquantel avec des particules de lipides solides d'un diamètre de 110 nm augmente d'un facteur quatre la quantité de matière active présente dans l'organisme par comparaison à une formulation en comprimé simple (Yang *et al.*, 2009).
- Chez la souris, l'utilisation de particules de chitosan conjuguées à un anti-inflammatoire par voie respiratoire a une demi-vie de 132 heures et son pic d'élimination a commencé six heures après l'instillation (Choi *et al.*, 2010).
- La libération de siRNA au moyen de nanosomes (liposomes de très petite taille inférieure à 100 nm) traite les hépatocytes infectés par le virus de l'hépatite C sur souris. La cible a été atteinte à près de 100% et débarrassée à près de 85% de la charge en virus tout en maintenant une viabilité des cellules de près de 90% (Kundu *et al.*, 2012).

Formulations nanoparticulaires vaccinales destinées à augmenter la réponse immunitaire

- Chez la souris, des nanosphères composées de PLA associant une protéine de *Streptococcus equi* induisent des réponses anticorps largement supérieures aux réponses aux antigènes seuls ou adjoints de CpG (Florindo *et al.*, 2009).
- Chez la souris, une formulation de nanoparticules composée de protéines recombinantes de nucléocapside virale et d'ARN bactérien en structure sub-nucléaire induit une réponse immunitaire élevée lors d'infections par le virus respiratoire syncytial (Roux *et al.*, 2008).
- Chez la souris, des résultats encourageants ont été obtenus dans la vaccination contre la leishmaniose en utilisant des nanoparticules de PLGA chargées du plasmide codant la protéine KMP-11 en primo injection et par des nanoparticules chargées de la protéine en rappel : les réponses étaient nettement supérieures à l'utilisation du plasmide seul et la charge en protozoaires était nettement réduite au site d'injection (Santos *et al.*, 2012).
- Une formulation de nanocapsules composées d'acide polyméthacrylique avec de l'ovalbumine présente avec succès les épitopes de la protéine et active les lymphocytes T CD4 et CD8 chez la souris. Cette formulation permet une protection des épitopes (Sexton *et al.*, 2009).
- L'utilisation de nanoparticules de silice mésoporeuse (HMSNs) a permis d'adsorber la protéine GST-ORF2-E purifiée du circovirus type 2 du porc et d'induire une réponse anticorps et lymphocytaire T chez la souris. Les HMSNs se comportent comme de bons agents de liaisons et de bons transporteurs. Ils possèdent également un fort potentiel pour la libération des matières actives (Guo *et al.*, 2012).
- Chez la souris, une nouvelle nanoparticule développée par le

MIT semble bien adaptée pour la libération de protéines antigéniques : elle comporte des particules antigéniques et des matières actives stimulantes dans une membrane composée de plusieurs couches de lipides interconnectées. Cette structure induit de fortes réponses immunitaires (Moon *et al.*, 2011).

Exemples d'applications des nanomédecines mises sur le marché

Le nombre de nanoparticules en développement comprenant des matières actives est évalué à environ 200, essentiellement en santé humaine, dont 30 en cours d'essais cliniques (Wagner *et al.*, 2006).

Sur le marché, le même auteur identifie 26 produits thérapeutiques basés sur les nanotechnologies et deux produits de diagnostic, ainsi que neuf nouveaux biomatériaux et un implant actif basé sur des électrodes fractales.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES EN SANTÉ ANIMALE

Quels sont les facteurs favorables ?

Les nanotechnologies présentent de multiples intérêts en santé humaine et par voie de conséquence en santé animale pour les raisons suivantes :

- amélioration de la biodisponibilité des matières actives, 95% des matières actives potentielles ayant une mauvaise biodisponibilité.
- meilleure spécificité vers la cible donc meilleure efficacité avec des doses plus faibles et un meilleur indice thérapeutique.
- amélioration de la pharmacocinétique donc possibilité d'une libération sur plusieurs jours voire plusieurs semaines.

Quels sont les freins à ces applications ?

En pharmacie, les coûts de développement et d'industrialisation sont un frein au développement de ces nouveaux produits. En effet, pour justifier des coûts et des investissements plus élevés, il faut que ces technologies permettent des gains significatifs notamment une diminution de toxicité, une efficacité accrue ou une meilleure observance. Il faut attendre des applications comme en cancérologie ou en imagerie médicale pour bien appréhender le potentiel des nanotechnologies.

En vaccinologie, les nanotechnologies sont déjà utilisées dans des nanoémulsions. Leur usage se répand et est plus abordable en raison de coûts industriels similaires à ceux des autres formulations. Par contre les encapsulations avec des polymères tout comme les objets conjugués sont encore dans le domaine de la recherche.

Quels sont les futures applications possibles ?

En pharmacie

La cancérologie chez les animaux de compagnie est aujourd'hui directement dérivée de la santé humaine: on peut en attendre des formulations injectables mieux adaptées pour limiter les effets secondaires. La formulation d'antiparasitaires en forme injectable, topicale ou orale permettrait de réduire les effets secondaires, de mieux cibler les organes touchés et d'améliorer la cinétique des produits. La formulation d'antibiotiques ou d'anti-inflammatoires avec nano-encapsulations devrait allonger la durée de relargage (libération de 8 jours, 15 jours ou plus).

Le diagnostic et l'imagerie médicale pour les animaux de compagnie profitera aussi des retombées de la santé humaine, pour la détection des tumeurs, des infections ou des inflammations locales.

En vaccinologie

La formulation d'objets complexes encapsulés permettra d'augmenter la réponse immunitaire, et permettra également des vaccinations en une seule injection avec des combinaisons de plusieurs antigènes. De même, la formulation avec des polymères biodégradables allongera la libération d'antigènes mieux protégés, et réduira donc le nombre d'injections nécessaires.

CONCLUSIONS

La nanomédecine a déjà trouvé sa place au sein de la médecine tant dans la thérapie que dans le diagnostic. Les freins sont essentiellement liés aux coûts de développement, au prix de revient de la fabrication et à la prise en compte du potentiel de ces nouvelles technologies au sein des équipes de recherche et développement.

Souvent, les innovations existent au laboratoire plusieurs années avant d'être reconnues et utilisées dans le commerce. Pour promouvoir les nanotechnologies, il faut, dans les prochaines années, une percée thérapeutique significative en chimiothérapie ou en vaccinologie. Alors l'intérêt de ces technologies activera des projets et le dépôt des brevets.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier mes collègues de Merial qui m'ont communiqué des informations et ont participé par leurs échanges à l'élaboration de ce document. En particulier : Jean-Christophe Audonnet, Hervé Poulet et Véronique Juillard.

BIBLIOGRAPHIE

- Choi, M., Minjung, C., Beom, S., Han, J., Jayoung, J., Sangjin, P., Myung-Haing, C., Kwangmeyung, K., Wan-Seob, C. 2010. Chitosan nanoparticles show rapid extrapulmonary tissue distribution and excretion with mild pulmonary inflammation to mice. *Toxicology Letters* 199, 144–152.
- Cordeiro, C., Wiseman, D.J., Lutwyche, P. Uh, M., Evans, J.C., Finlay, B.B., Webb, M.S., 2000, Antibacterial Efficacy of Gentamicin Encapsulated in pH-Sensitive Liposomes against In Vivo *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Intracellular Infection Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44, 553–539.
- Florindo, H. F., Pandit, S., Goncalves, L.M., Videira, M., Alpar, O., Alemeida, A.J., 2009. Antibody and cytokine-associated immune responses to *S. equi* antigens entrapped in PLA nanospheres. *Biomaterials* 30, 5161–5169.
- Goutayer, M., Dufort, S., Josserand, V., Royere, A., Heinrich, E., Vinet, F., Bibette, J., Coll, J.L., Texier, I., 2010. Tumor targeting of functionalized lipid nanoparticles: Assessment by in vivo fluorescence imaging. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 75, 137–147.
- Guo, HC, Feng, XM, Sun, SQ, Wei, YQ, Sun, DH, Liu, XT, Liu, ZX, Luo, JX, Yin, H., 2012. Immunization of mice by hollow mesoporous silica nanoparticles as carriers of porcine circovirus type 2 ORF2 protein. *Virology* 12, 9:108. doi: 10.1186/1743-422X-9-108.
- Huynh, N.T., Passirani, C., Saulnier, P., Benoit J.P., 2009. Lipid nanocapsules: A new platform for nanomedicine. *International Journal of Pharmaceutics* 379, 201–209
- Irache, J.M., Esparza, I., Gamazo, C., Agüeros, M., Espuelas, S., 2011. Nanomedicine: Novel approaches in human and veterinary therapeutics. *Veterinary Parasitology* 180, 47–71.
- Ishihara, T., Miyuki, T., Megumu, H., Yutaka, M., Tohru, M., 2010. Preparation and characterization of a nanoparticulate formulation composed of PEG-PLA and PLA as anti-inflammatory agents. *International Journal of Pharmaceutics* 385, 170–175.
- Koudelka S., Turanek, J., 2012. Liposomal paclitaxel formulations. *Journal of Control Release* 163, 322–334.
- Kundu, A., K., Chandra, P., K., Hazari, S., Pramari, Y.V., Dash, S., Mandal, T., K., 2012. Development and optimization of nanosomal formulations for siRNA delivery to the liver. *European Journal of Pharmaceutics* 80, 257–267.
- Lensing, R. Bleich, A., Smoczek, A., Glage, S., Ehlert, N., Luessenhop, T., Behrens, P., Müller, P., Kietzmann, M., Stieve, M., 2013. Efficacy of nanoporous silica coatings on middle ear prostheses as a delivery system for antibiotics: An animal study in rabbits. *Acta Biomater.* 9(1):4815–25. doi: 10.1016/j.actbio.2012.08.016.
- Liu, Y., Miyoshi, H., Nakamura, M., 2007. Nanomedicine for drug delivery and imaging: A promising avenue for cancer therapy and diagnosis using targeted functional nanoparticles. *International Journal of Cancer* 120, 2527–2537.
- Maeda, H., 2010. Tumor-selective delivery of macromolecular drugs via the EPR effect: Background and future prospects. *Bioconjugate Chemistry* 21, 797–802.
- Moon J.J., Suh H., Bershteyn A. 2011. Antigen adjuvant-carrying nanoparticles show promise for vaccine delivery. *Nat. Mater.* 10(3), 243–251.
- Mura, S., Couvreur, P., 2012, Nanotheranostics for personalized medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 13, 1394–1416.
- Roux X., Dubuquoy C., Durand, G., Thi-Lan T.T., Castagné, N., Bernard, J., Petit-Camuridan, A., Eléouët, J.-F., Riffault, S., 2008. Sub-Nucleocapsid Nanoparticles: A Nasal Vaccine against Respiratory Syncytial Virus. *PLoS ONE*, 3, 3, e1766.
- Santos, DM, Carneiro, MW, de Moura, TR, Fukutani, K, Clarencio, J, Soto, M, Espuelas, S, Brodskyn, C, Barral, A, Barral-Netto, M, de Oliveira, CI., 2012. Towards development of novel immunization strategies against leishmaniasis using PLGA nanoparticles loaded with kinetoplastid membrane protein-II. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 2115–2127.
- Sexton, A., Whitney P.G., Chong, S.F., Zelikin, A.N, Johnston, A.P.R., De Rose R., Brooks A., Caruso F., Kent S.J., 2009. A Protective Vaccine Delivery System for In Vivo T Cell Stimulation Using Nanoengineered Polymer Hydrogel Capsules *ACS Nano*, 3, 11, 3391–3400.
- Si-Shen F, Lin, M., Panneerselvam A., Chee, W., G., Wenyou, Z., 2009. Poly(lactide)-vitamin E derivative/montmorillonite nanoparticle formulations for the oral delivery of Docetaxel. *Biomaterials* 30, 3297–3306.
- Underwood C., van Eps, A.W., 2012. Nanomedicine and veterinary science: The reality and the practicality. *The Veterinary Journal* 193, 12–23.
- Wagner V., Dullaart A., Bock A.K., Zweck A., 2006. The emerging nanomedicine landscape. *Nature Biotechnology* 24, 10, 1211–1217.
- Xie S., Zhu L., Dong, Z, Wang, X. Wang Y., Li X, Zhou W., 2001. Preparation, characterization and pharmacokinetics of enrofloxacin-loaded solid lipid nanoparticles: Influences of fatty acids. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 83, 382–387.
- Yang, L., Yang, L, Geng, Y, Li, H, Zhang, Y, You, J, Chang, Y. *et al.*, 2009. Enhancement the oral bioavailability of praziquantel by incorporation into solid lipid nanoparticles. *Pharmazie* 64, 86–89.