

Química supramolecular i nanomedicina: recerca i innovació

Discurs de presentació de Nora Ventosa i Rull
com a membre numerària de la Secció de Ciències
i Tecnologia, llegit el dia 7 de juny de 2021



Institut
d'Estudis
Catalans

SECCIÓ
DE CIÈNCIES
I TECNOLOGIA

Química supramolecular
i nanomedicina:
recerca i innovació

Química supramolecular i nanomedicina: recerca i innovació

Discurs de presentació de Nora Ventosa i Rull
com a membre numerària de la Secció de Ciències
i Tecnologia, llegit el dia 7 de juny de 2021

Barcelona, 2023



Institut
d'Estudis
Catalans

SECCIÓ
DE CIÈNCIES
I TECNOLOGIA

Biblioteca de Catalunya. Dades CIP

Ventosa, Nora, autor

Química supramolecular i nanomedicina : recerca i innovació. — Primera edició

Referències bibliogràfiques

ISBN 9788499657189

I. Institut d'Estudis Catalans. Secció de Ciències i Tecnologia. II. Títol

1. Química supramolecular 2. Nanomedicina.

544.1:539.196

620.3:61

© Nora Ventosa i Rull

© 2023, Institut d'Estudis Catalans, per a aquesta edició

Carrer del Carme, 47. 08001 Barcelona

Primera edició: desembre de 2023

Text revisat lingüísticament per la Unitat d'Edició del Servei Editorial de l'IEC

Disseny de la coberta: Azcunce | Ventura

Compost per fotocomposició gama s.l.

Imprès a Service Point FMI, SA

ISBN: 978-84-9965-718-9

Dipòsit Legal: B 15132-2023

DOI: 10.2436/10.2000.78.1



Aquesta obra és d'ús lliure, però està sotmesa a les condicions de la llicència pública de Creative Commons. Es pot reproduir, distribuir i comunicar l'obra sempre que se'n reconegui l'autoria i l'entitat que la publica i no se'n faci un ús comercial ni cap obra derivada. Es pot trobar una còpia completa dels termes d'aquesta llicència a l'adreça: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es/deed.ca>.

Agraieixo molt sincerament als membres de la Secció de Ciències i Tecnologia de l'Institut d'Estudis Catalans (IEC) que m'hagin elegit com a membre numerària de la institució. És per a mi un honor immens i una responsabilitat que procuraré correspondre en la mesura de les meves possibilitats. Sé que en la proposta com a membre vaig tenir el suport d'Àngel Messeguer, Pilar González, Salvador Alegret, Damià Barceló, Joan Grimalt i Jordi Llorca. Moltes gràcies a tots per la vostra aposta i per la confiança en la meva persona per a treballar des de l'IEC pel nostre país. Enfronto aquesta tasca amb respecte i alegria. La meva voluntat és contribuir, des de l'IEC, a desenvolupar, a promoure i a divulgar la recerca i la innovació que es fan a Catalunya, especialment en l'àmbit de la química, que és on he desenvolupat la meva professió des que vaig iniciar els estudis universitaris a l'Institut Químic de Sarrià.

PRÒLEG

Catalunya té una llarga tradició química, tant des de la faceta acadèmica i educativa, com de la industrial i comercial. La indústria química catalana va néixer al segle XIX amb els colorants, lligats a un sector tan català com ho és el tèxtil, i poc després van aparèixer altres sectors, com ara el miner, el dels fertilitzants, el petroquímic i el farmacèutic.

Actualment, cada any hi ha més de nou-cents graduats de cicles formatius directament relacionats amb la química. La major part de les universitats catalanes imparteixen els graus de química i/o d'enginyeria química, amb més de set-cents graduats anuals. En nivells superiors, més de quatre-cents estudiants fina-

litzen els estudis de màster relacionats amb la química i cada curs acadèmic més de cent químics completen programes de doctorat. Un fet molt important és l'elevat grau d'inserció laboral, dins mateix de Catalunya, de tots aquests nous professionals.

Catalunya acull una densa i potent xarxa d'empreses químiques amb un alt grau d'internacionalització. Segons dades d'ACCIÓ, agència per la competitivitat de l'empresa de la Generalitat de Catalunya, el sector químic és el segon sector per volum de negoci de l'economia catalana. El pes de les empreses químiques catalanes a Espanya és molt important. El 2018, les més de mil empreses catalanes suposaven més del 29 % del total de les empreses químiques a l'Estat i facturaven el 43 % del total del sector. Durant la darrera dècada, el 48,2 % de les exportacions de productes químics espanyols han estat catalanes. El sector químic és el primer sector exportador a Catalunya, amb un 17 % del total de les exportacions, les quals han augmentat un 41,6 % en els últims deu anys [1].

Actualment, la química contribueix de manera molt significativa a desenvolupar nous materials funcionals, gràcies al coneixement, en augment exponencial, de com les molècules i els àtoms interactuen entre ells per formar organitzacions supramoleculares complexes i, en darrer terme, nous materials.

El meu discurs de presentació versarà sobre la importància de la química supramolecular en el desenvolupament de noves medicines anomenades *nanomedicines*. També parlaré de la ineludible necessitat de col·laboració entre el món de la recerca acadèmica i el de l'empresa perquè les inversions en investigació d'un país, com, per exemple, Catalunya, condueixin a nous tractaments i productes farmacèutics en benefici dels pacients i de la societat en general.

El discurs està dividit en quatre grans blocs. El primer tracta sobre què són les nanomedicines basades en els assemblatges supramoleculares. En el segon s'explica breument quins són els reptes per a la caracterització d'aquestes noves nanomedicines, en comparació de les medicines basades en molècules, per tal de garantir la seguretat dels pacients. I els dos darrers blocs fan referència als reptes en l'escalat i en la preparació a escala industrial d'aquestes nanomedicines, així com el paper que tenen les empreses emergents (*start-up*) en sistemes d'innovació oberta per tal de fer arribar les nanomedicines a les fases clíniques. En aquests dos últims blocs s'empen desenvolupaments produïts en el grup Nanomol de l'Institut de Ciència de Materials de Barcelona del Consell Superior d'Investigacions Científiques (ICMAB-CSIC) per a il·lustrar i per a transmetre aquest últim parell de conceptes.

INTRODUCCIÓ

Com és ben conegut, al segle XIX el químic Dmitri Mendeléiev descobreix l'ordre dels elements químics i el que es defineix com la taula periòdica. La taula

periòdica dels elements químics ha permès sistematitzar els coneixements químics, facilitar l'estudi de les propietats de la matèria a la Terra i a l'Univers, i fins i tot predir l'existència de nous elements. També al segle XIX Amadeo Avogadro postula el concepte de molècula.

Tots aquests coneixements, ja entrat el segle XX i sobretot gràcies a la indústria farmacèutica, permeten començar a desenvolupar fàrmacs basats en la identificació de molècules que tenen activitat terapèutica. El desenvolupament de la síntesi química per a obtenir substàncies naturals ja conegudes o productes que no existeixen de manera natural i el descobriment dels mètodes físics per a caracteritzar l'estructura de les molècules comporten que, durant tot el segle XX, hi hagi una explosió en la descoberta i el desenvolupament de nous fàrmacs basats en noves entitats moleculars. Actualment, s'han identificat milers de molècules terapèuticament actives, part de les quals han estat aprovades per les agències dels medicaments, com ara l'Agència Europea de Medicaments (EMA, de l'anglès European Medicines Agency), i s'estan produint per a tractar diferents malalties gràcies a la indústria i a les empreses químiques i farmacèutiques. Per exemple, a la figura 1 es mostren les estructures moleculars de la gentamicina, que és un conegut antibiòtic, i la doxorubicina, emprada en la quimioteràpia del càncer, que són molècules terapèuticament actives identificades i desenvolupades com a fàrmacs durant el segle XX.

En aquests fàrmacs, a més de l'entitat molecular terapèuticament activa, hi poden haver altres molècules no actives, anomenades *excipients*. La qualitat d'aquests fàrmacs convencionals està definida únicament per la composició química, a diferència de les nanomedicines, com es veurà més endavant.

Els fàrmacs convencionals tenen poca selectivitat pel que fa a les dianes terapèutiques. És a dir, un cop subministrats, es distribueixen de manera no controlada pel nostre organisme. Aquest fet pot comportar una elevada toxicitat, com en el cas de molècules citotòxiques emprades en la quimioteràpia del càncer, o una

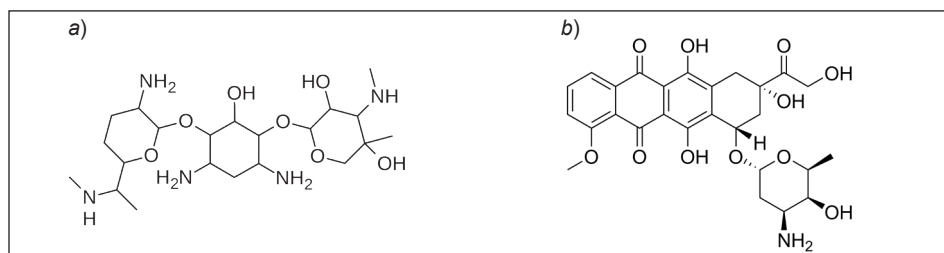


FIGURA 1. Estructura molecular de l'antibiòtic gentamicina (a) i l'anticancerigen doxorubicina (b).
FONT: Wikimedia Commons, <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gentamicin_Structure.svg> i <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Doxorubicin_chemical_structure.png>.

baixa eficàcia, com en el cas d'antibiòtics hidrofílics amb baixa capacitat per a travessar la membrana cel·lular en el tractament de malalties infeccioses produïdes per bacteris que són dins les cèl·lules dels pacients afectats.

També durant el segle xx, gràcies a les disciplines de la bioquímica i la biologia molecular, es descobreixen mutacions genètiques i biomolècules relacionades amb malalties i amb patologies. També s'identifiquen biomarcadors que serveixen per al pronòstic i el seguiment del curs de diferents malalties. Ja durant el segle XXI, es desenvolupen eines per a modificar de manera precisa biomolècules involucrades en processos patològics. Un exemple és l'eina de CRISPR/Cas9 —o tissors genètiques—, que permet transformar químicament la molècula de l'àcid desoxiribonucleic (ADN) i que de segur s'aplicarà a teràpies avançades contra el càncer i per a la cura de malalties hereditàries. La importància d'aquesta eina ha estat reconeguda amb el Premi Nobel de Química 2020 per a les investigadores Jennifer A. Doudna, química de la Universitat de Califòrnia a Berkeley, i Emmanuelle Charpentier, microbiòloga de l'Institut Max Planck de Biologia de la Infecció de Berlín.

A començaments del segle XXI, gràcies a tot aquest coneixement relacionat amb la identificació de biomolècules involucrades en malalties, es comença a plantejar l'ús d'aquestes biomolècules per a desenvolupar nous fàrmacs, que s'anomenen *biològics*. L'avantatge que tenen aquestes biomolècules, en relació amb les molècules actives obtingudes mitjançant síntesi química, és que són molt efectives, poden ser molt selectives i no són tòxiques [2-4].

Ara bé, la transformació d'aquestes biomolècules en fàrmacs no és fàcil i requereix resoldre diversos reptes, com ara els que s'enumeren a continuació: *a)* algunes biomolècules tenen molt poca penetració a través de membranes biològiques, *b)* són fàcilment degradables i *c)* causen una elevada resposta immunitària no desitjada quan són subministrades de manera exògena al nostre cos. Per totes aquestes limitacions, l'eficàcia *in vivo* de les biomolècules actives terapèuticament és baixa. L'eficàcia d'un actiu terapèutic, ja sigui un actiu sintètic o una biomolècula, és la diferència i la relació entre la quantitat del fàrmac que administrem a l'organisme (per exemple, per via oral) i la quantitat de fàrmac que arriba a la diana terapèutica (per exemple, un tumor) i exerceix el seu efecte. Aquesta diferència pot ser molt gran; per tant, hi ha fàrmacs que tenen una eficàcia molt baixa [5].

La producció de moltes biomolècules terapèutiques es fa a través de processos biotecnològics, que acostumen a tenir un cost molt elevat (per exemple, hi ha algunes proteïnes o alguns enzims que poden arribar a costar un milió d'euros per gram). Així doncs, en el cas de les biomolècules terapèutiques és especialment rellevant que el desenvolupament farmacològic aconsegueixi augmentar-ne l'eficàcia perquè puguin arribar a la pràctica clínica [6-7].

NANOMEDICINES BASADES EN ELS ASSEMBLATGES SUPRAMOLECULARS

Així doncs, per tal que les biomolècules, ja siguin proteïnes, pèptids o àcids nucleics, acabin convertint-se en fàrmacs, és imprescindible augmentar-ne l'eficàcia *in vivo*. Des de finals del segle xx s'està constatant que una de les estratègies més efectives per a assolir aquest objectiu és la utilització de nanotransportadors per a subministrar les molècules terapèuticament actives dins l'organisme viu. Tal com es mostra a la figura 2, l'objectiu és que la biomolècula activa quedi protegida per un nanotransportador, a fi que quan la subministrem de manera exògena a l'organisme, es redueixi la resposta immunitària no desitjada, augmenti la penetració a través de membranes biològiques (per exemple, membranes cel·lulars o la barrera hematoencefàlica), es protegeixi contra una degradació prematura durant la circulació en sang, se'n permeti, també, un alliberament progressiu dins del nostre cos i, fins i tot, es promogui el direccionament preferent cap a dianes terapèutiques [5, 8-9].

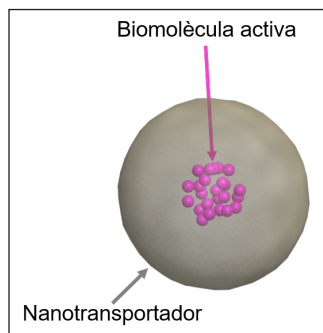


FIGURA 2. Esquema d'un nanotransportador de biomolècules terapèutiques en organismes vius.

FONT: Elaboració pròpia.

Aquests nanotransportadors poden ser unimoleculars, és a dir, estar constituïts per una sola molècula, com, per exemple, els dendrímers. Els dendrímers són macromolècules polimèriques ramificades molt ordenades, que es caracteritzen per la perfecció estructural i sovint adopten una morfologia tridimensional esfèrica [10-11]. L'obtenció de nanotransportadors unimoleculars, com ara els dendrímers, es fa mitjançant reaccions químiques irreversibles, és a dir, en aquesta càpsula unimolecular tots els àtoms estan units mitjançant enllaços químics covalents forts. En un nanotransportador unimolecular, com ara el dendrímer representat a la figura 3, les diferents propietats (per exemple, solubilització, direccionament cap a dianes terapèutiques, etc.) venen donades per diferents parts de la mateixa molècula. Aquestes parts no es poden desassemblar, ja que formen part d'una mateixa unitat molecular. L'actiu terapèutic pot estar enllaçat de manera covalent al nanotransportador unimolecular o pot quedar atrapat físicament dins la macromolècula.

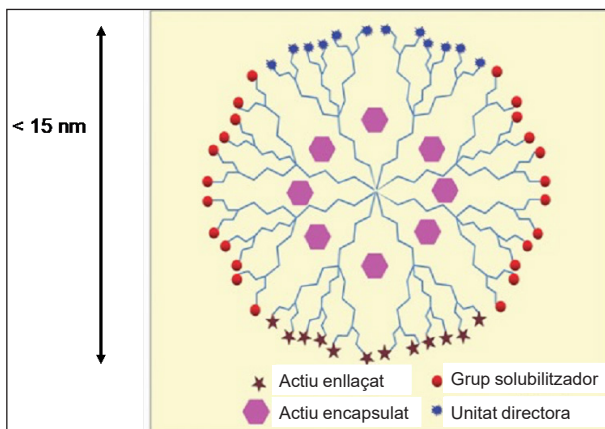


FIGURA 3. Esquema d'un nano-transportador unimolecular, en què l'addició de noves propietats s'aconsegueix mitjançant enllaços covalents irreversibles.

FONT: Adaptat de [12].

Ara bé, des de finals del segle passat, es va començar a veure que potser era més efectiu, més que no pas construir nanotransportadors unimoleculars a base de reaccions químiques i enllaços covalents, construir aquests nanotransportadors a través de l'assemblatge de diferents molècules que tinguessin diferents propietats. És a dir, unir les molècules que tenen l'acció terapèutica i altres molècules que tinguin propietats farmacològiques a través del que es coneix com a *química supramolecular* [13].

El concepte de química supramolecular el va postular el químic Jean-Marie Lehn (premi Nobel 1987) a finals del segle passat i és una disciplina que està creixent exponencialment des d'aleshores. La importància d'aquesta àrea de la química va ser novament reconeguda amb el Premi Nobel 2016 per a Jean-Pierre Sauvage, J. Fraser Stoddart i Bernard L. Feringa pels seus treballs en el disseny i en la síntesi de màquines moleculars.

L'autoassemblatge molecular o la química supramolecular també estan demostrant que tenen una gran importància en el desenvolupament de nanotransportadors de fàrmacs i sistemes d'alliberament de medicaments (*drug delivery systems*) [14-16]. Tal com s'il·lustra a la figura 4, l'avantatge d'aquests nanotransportadors, que estan formats per diverses molècules, en lloc d'estar formats per una de sola en la qual tots els àtoms estan units per enllaços covalents, és que aquestes nanoestructures supramoleculares poden respondre de manera precisa a estímuls externs suaus, com, per exemple, un canvi de pressió, un canvi de temperatura o un canvi de pH. Aquests estímuls suaus ocorren habitualment en organismes vius i poden ser aprofitats perquè els nanotransportadors multimoleculars es desfacin i, per tant, alliberin les molècules actives que transporten.

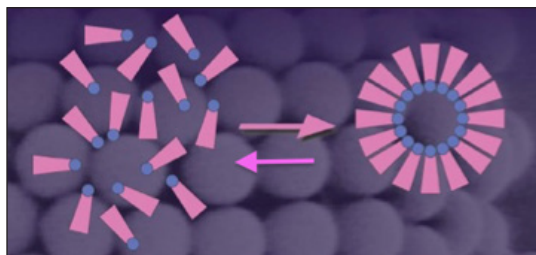


FIGURA 4. Nanoestructures supramoleculares que poden respondre de manera precisa a estímuls externs (per exemple, petits canvis de temperatura, de pH, de pressió, etc.).

FONT: Elaboració pròpia.

La utilització d'aquest tipus de nanotransportadors, que normalment són nanopartícules d'unes dimensions inferiors a uns 200 nanòmetres, té com a objectiu últim protegir el producte actiu que se subministra a l'organisme mentre circula pels vasos sanguinis i afavorir que penetri a través de certes membranes biològiques. A més, aquesta partícula pot estar funcionalitzada, en la seva superfície, per molècules que reconeguin de manera selectiva biomarcadors o altres biomolècules que estan sobreexpressades en els teixits o els òrgans malalts, de manera que s'augmenta el direccionament de l'actiu terapèutic cap a les dianes terapèutiques i es millora el control de la biodistribució.

Per a fer realitat el concepte de la utilització de la química supramolecular i de la nanotecnologia per a desenvolupar noves nanomedicines, els científics necessitem desenvolupar eines que ens permetin controlar l'assemblatge molecular i, molt important, eines i tècniques físiques que ens permetin caracteritzar a escala supramolecular i nanoscòpica els nanotransportadors multimoleculares, que són materials ordenats però que la majoria de les vegades no tenen un ordre cristal·lí.

La novetat d'aquest camp queda demostrada a la figura 5, en què es representa el creixement de les publicacions trobades al Web of Science amb les paraules clau *drug* i *self-assembl** en el títol. Tal com es pot veure, les primeres publicacions apareixen el 1995 i han anat creixent de manera molt notable. Evidentment, amb data 7 de juny de 2021, encara no estan registrades totes les publicacions de 2021.

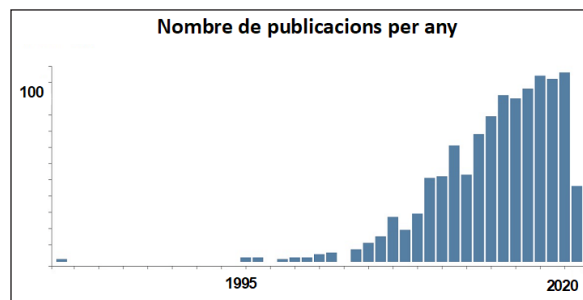


FIGURA 5. Creixement del nombre de publicacions per any trobades amb el cercador Web of Science fent servir les paraules clau *drug* i *self-assembl** en el títol de la publicació (consulta: 7 de juny de 2021).

FONT: Adaptat de Web of Science.

Arreu del món hi ha moltíssims equips de recerca treballant en el disseny, el desenvolupament i l'obtenció de nanotransportadors per a crear noves nanomedicines i nous tractaments, i també nous mètodes per a detectar malalties. A la figura 6 es representa el nombre relatiu d'assaigs clínics en curs (2008-2020) de nanomedicines basades en diferents tipus de nanotransportadors (nanopartícules basades en proteïnes, nanopartícules basades en lípids, nanopartícules basades en polímers, nanopartícules metàl·liques, micelles, vesícules o liposomes, i altres tipus) [17].

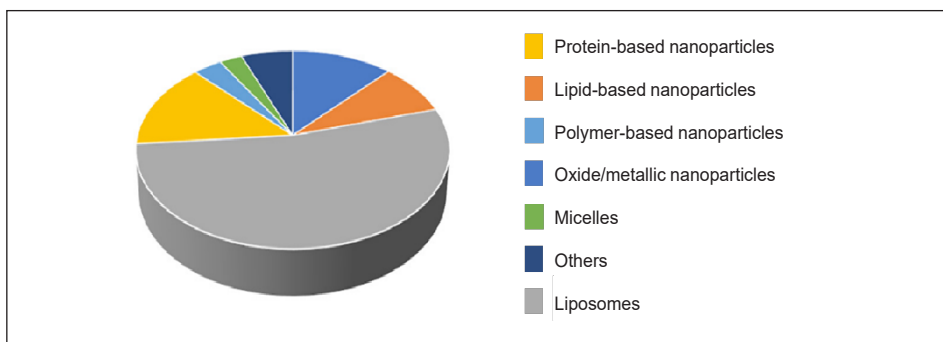


FIGURA 6. Tipus de nanotransportadors de fàrmacs en assaigs clínics en curs (2008-2020).
FONT: Extret de [17].

Tal com es pot veure a la figura 6, un dels tipus de nanopartícules més emprades per a obtenir noves nanomedicines són les vesícules o els liposomes.

També és interessant fer menció de la importància que han tingut aquests nanotransportadors en el desenvolupament de les vacunes que protegeixen davant del coronavirus SARS-CoV-2, agent causant de la malaltia covid-19. Dues d'aquestes vacunes utilitzen nanovesícules per a transportar l'àcid ribonucleic que ha d'immunitzar-nos contra aquesta malaltia.

Les vesícules són nanoestructures multimoleculares, és a dir, estan constituïdes per diferents unitats moleculars. El tipus de vesícules més interessant per a desenvolupar nanomedicines són les nanovesícules amb una mida inferior a 200 nanòmetres [18]. Les nanovesícules, i totes les vesícules, estan constituïdes per molècules amfifíliques, és a dir, molècules que tenen una part polar, amb gran afinitat per l'aigua o els medis aquosos, i una altra part hidrofòbica, per exemple, una cadena carbonada. Aquestes molècules, quan es posen dins l'aigua, s'autoorganitzen, formant estructures esfèriques constituïdes per una bicapa lipídica que es tanca sobre si mateixa. En aquestes estructures multimoleculares, la bicapa, o membrana lipídica, separa el seu interior aquós de la resta del medi aquós que l'envolta, de la mateixa manera que ho fa la membrana cel·lular (vegeu la figura 7).

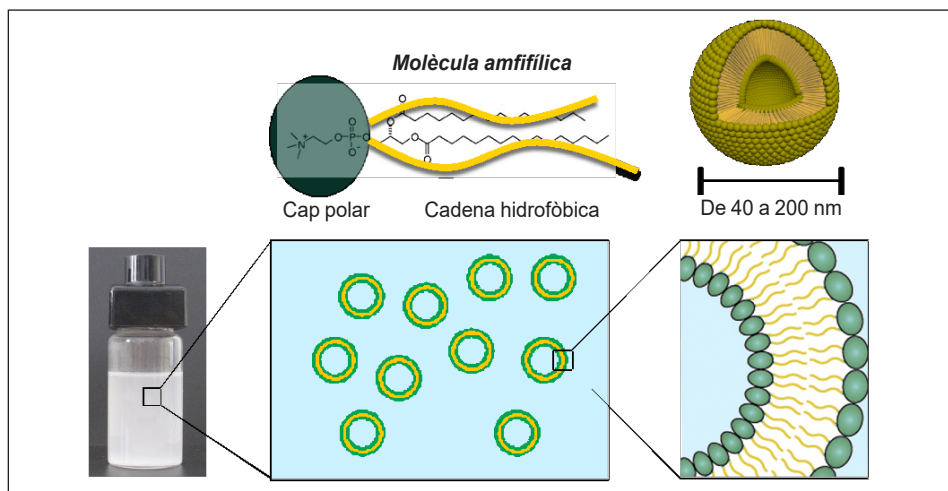


FIGURA 7. Nanovesícules per a protegir i transportar actius terapèutics. Autoassemblatge de molècules amfifíliques mitjançant enllaços febles no covalents.

FONT: Elaboració pròpia.

És molt important recalcar que les forces d'interacció que mantenen unides les molècules amfifíliques que formen les vesícules són molt més febles que les forces que mantenen units els àtoms dins d'una molècula, les forces covalents.

Les nanovesícules tenen molt d'interès en el desenvolupament de nanomedicines, perquè són fàcilment funcionalitzables, per exemple, amb altres unitats moleculars o grups funcionals que ens permetin dirigir-les cap a dianes terapèutiques. Aquestes nanoestructures multimoleculars permeten transportar actius terapèutics tant si són hidrofílics dins del nucli aquós o bé actius lipòfils transportats enganxats a l'exterior de la membrana o dins d'aquesta. Les nanovesícules ja s'ha vist que són molt efectives per a transportar actius terapèutics dins de les cèl·lules. Per exemple, actualment, s'estan investigant i desenvolupant diferents tipus de nanovesícules per a la transfecció d'àcids nucleics, que són biomolècules hidrofíliques que no poden penetrar dins de les cèl·lules quan les subministrem de manera exògena [19-20].

Els nanotransportadors també estan despertant molt interès pel que fa al direccionament preferencial d'actius terapèutics cap a cèl·lules danyades, mitjançant l'establiment de múltiples enllaços no covalents entre molècules o grups funcionals presents en el nanotransportador, que actuen com a lligands directors, i biomarcadors presents en les cèl·lules o teixits danyats. A la figura 8 s'il·lustra aquesta estratègia, anomenada en anglès *multibinding*, que afavoreix el direccionament preferen-

cial [21]. Tal com es mostra a la figura, la interacció d'una molècula activa que conté un sol lligand director és la mateixa tant amb les cèl·lules sanes com amb les canceroses, tot i que el nombre de biomarcadors està sobreexpressat en les canceroses. La discriminació dels dos tipus de cèl·lules per aquest sistema unimolecular és molt baixa. Contràriament, si s'utilitzen nanopartícules multimoleculares que contenen en la seva superfície més d'un lligand director, les nanopartícules interaccionen més fortament amb les cèl·lules canceroses —amb les quals poden establir, simultàniament, diferents punts d'interacció— que amb les cèl·lules sanes, de manera que dirigeixen de forma preferencial les molècules actives cap a les cèl·lules danyades.

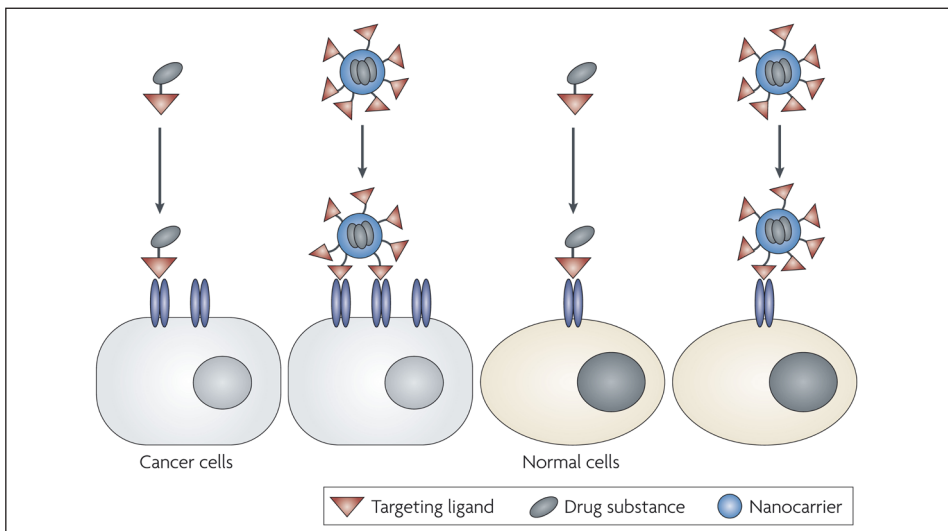


FIGURA 8. Utilització de nanopartícules amb múltiples lligands directors en la seva superfície per al direccionament preferencial de molècules actives cap a cèl·lules canceroses.
FONT: Extret de [21].

La primera nanomedicina aprovada per l'Administració d'Aliments i Fàrmacs (FDA, de l'anglès Food and Drug Administration) va ser el Doxil, desenvolupat mitjançant la col·laboració del químic i físic Yechezkel Barenholz i el metge Alberto Gabizon de la Universitat Hebrea de Jerusalem. Aquesta nanomedicina està basada en la utilització de nanoliposomes per a encapsular cristalls de doxorubicina [22]. La doxorubicina és un fàrmac anticancerígen molt emprat que, quan se subministra en forma de dissolució, pot causar cardiotoxicitat. L'encapsulament d'aquest actiu en els nanoliposomes ha reduït de manera significativa la cardioto-

xicitat de la doxorubicina i n'ha augmentat l'eficàcia. Aquest fet s'explica per l'efecte de permeabilitat i capacitat de retenció (EPR, de l'anglès *enhanced permeability and retention effect*) [23], que no és res més que la diferent separació que tenen les cèl·lules endotelials quan són a prop d'un teixit sa o quan són a prop d'un teixit tumoral, i que s'aprofita en nanomedicina per a fer augmentar el direccionament preferencial d'actius cap als teixits cancerosos. Les cèl·lules endotelials, quan són a prop d'un teixit sa, tenen una separació més petita que quan són a prop d'un tumor. Així doncs, si el que tenim és una dissolució de doxorubicina, en què aquestes molècules estan aïllades, podran passar tant a través de la separació que hi ha entre les cèl·lules endotelials dels teixits sans com en la dels tumorals. Per contra, si tenim les molècules de doxorubicina encapsulades en una partícula, aquestes partícules de dimensions nanoscòpiques, i més grans que una molècula de doxorubicina, no poden penetrar a través de la separació de les cèl·lules endotelials properes als teixits sans i, en canvi, sí que ho poden fer a través de la separació de les cèl·lules endotelials properes a un tumor.

REPTES EN LA CARACTERITZACIÓ DE LES NANOMEDICINES PER A GARANTIR LA SEVA QUALITAT I LA SEURETAT DELS PACIENTS

Per tal que les noves nanomedicines arribin a la pràctica clínica i a ser beneficioses per als pacients, és imprescindible garantir-ne la qualitat. Tal com es detallarà a continuació, la qualitat farmacèutica de les nanomedicines ve determinada per la seva estructura i homogeneïtat a escala supramolecular i nanoscòpica, a més de la composició química. La qualitat de les medicines considerades clàssiques ve determinada únicament per la composició química. En el cas de les nanomedicines, si diem que les seves propietats estan lligades a la mida i a la morfologia de les nanopartícules que les componen, a com està funcionalitzada la superfície d'aquestes nanopartícules, etc., hem de ser capaços de caracteritzar i controlar totes aquestes característiques estructurals per a garantir la seva qualitat i la seguretat dels pacients.

Actualment, gràcies als desenvolupaments de tècniques de caracterització física de materials no ordenats —duts a terme des de finals del segle passat—, com, per exemple, les tècniques avançades de difracció de raigs X per a la caracterització de la dispersió morfològica o les tècniques de microscòpia avançades per a l'observació individual de nanopartícules, a més d'analitzar la composició química d'una formulació farmacèutica, es pot determinar l'organització de les unitats moleculars que la componen en els àmbits supramolecular i nanoscòpic. Les diferències estructurals a escala nanoscòpica i supramolecular, com les de les dues formulacions vesiculars esquematitzades a la figura 9, poden conduir a propietats farmacològiques molt diferents.

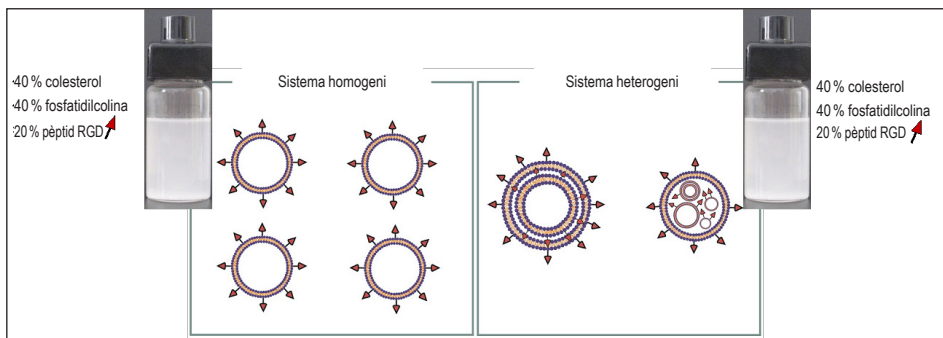


FIGURA 9. Representació esquemàtica de les diferències estructurals, a escala supramolecular i nanoscòpica, de dues nanoformulacions vesiculars amb el mateix aspecte macroscòpic i la mateixa composició química (40 % colesterol, 40 % fosfatidilcolina i 20 % colesterol funcionalitzat amb el pèptid RGD [arginina-glicina-àcid aspàrtic] a través d'una cadena de polietilenglicol [col-PEG-RGD]). Les fletxes representen unitats moleculars de col-PEG-RGD.

FONT: Elaboració pròpia.

El control i la caracterització de l'homogeneïtat partícula a partícula d'una nanoformulació/nanomedicina és molt important. Per exemple, en una nanoformulació constituïda per nanopartícules funcionalitzades en la seva superfície amb lligands directors, com, per exemple, pèptids o anticossos que reconeguin de manera selectiva les biomolècules sobreexpressades en la diana terapèutica, és molt important assegurar i controlar que totes les nanopartícules que componen la nanoformulació tinguin el mateix grau de funcionalització, per a assegurar la seva qualitat i la seguretat dels pacients. La formulació vesicular, representada a l'esquerra de la figura 9, té l'homogeneïtat partícula a partícula apropiada per a arribar a la pràctica clínica, mentre que l'heterogeneïtat de la formulació representada a la dreta no la té.

És per això que les agències del medicament, tant d'àmbit europeu com espanyol, vigilen que els grups de recerca i les empreses que proposen noves nanoformulacions/nanomedicines emprin mètodes de caracterització adequats per a la determinació de les característiques estructurals, que són crítiques per a assegurar-ne la qualitat. No va ser fins al gener de 2013 que l'Agència Europea de Medicaments va publicar els requisits que ha de tenir una formulació liposomal per a poder-se administrar per via intravenosa, cosa que indica la novetat del concepte *nanomedicina* en el camp del desenvolupament de medicaments [24].

L'any 2015 es van comptabilitzar quaranta-tres nanomedicines aprovades i, actualment, n'hi ha aproximadament un centenar en assaigs clínics. La majoria d'aquests assaigs són en fase clínica I i un 70 % d'aquestes nanomedicines s'estan desenvolupant per a tractaments de malalties oncològiques [25].

REPTES EN L'ESCALAT I LA PREPARACIÓ A ESCALA INDUSTRIAL DE LES NANOMEDICINES

Per què costa que les nanomedicines arribin a la fase clínica? Cada cop n'hi ha més, però si les comparem amb les medicines convencionals, la qualitat de les quals mesurem en funció de la composició química, n'hi ha moltes menys. La causa, en gran manera, està relacionada amb la dificultat de formar i processar les nanopartícules i les estructures supramoleculares que componen les nanomedicines. La formació d'una partícula multimolecular es fa mitjançant l'assemblatge de diferents molècules a través de forces d'interacció o enllaços febles. Aquests nanotransportadors supramoleculares tenen més capacitat de respondre a estímuls externs que una entitat unimolecular i, a més, es poden preparar en condicions suaus, cosa que també els fa molt atractius de cara a la integració de biomolècules. Per contra, durant la preparació és molt difícil controlar l'assemblatge molecular i, per tant, es fa molt difícil controlar la mida, la morfologia i, al final, la qualitat de les noves nanoformulacions/nanomedicines.

Els mètodes actuals de fabricació de materials nanoparticulats —per exemple, els mètodes de precipitació— no són adequats per a fabricar nanomedicines, perquè tenen un molt baix control de l'assemblatge molecular. Durant un procés de precipitació es produeix un assemblatge de molècules que es troben en dissolució per a formar una nova fase sòlida, que pot estar formada per partícules. Les precipitacions convencionals produïdes per descens de temperatura, per exemple, tenen un molt baix control de l'assemblatge molecular. Això vol dir que, després d'obtenir el material particulat, s'han de fer múltiples operacions de purificació, cosa que fa que l'escalat industrial sigui difícil, que hi hagi un consum elevat d'energia i que molt sovint aquests processos de fabricació no siguin adequats per a fabricar nanopartícules que continguin biomolècules.

Així doncs, per a facilitar la translació del laboratori a la fase clínica s'estan dedicant molts esforços a desenvolupar processos alternatius als que actualment hi ha en la indústria quimicofarmacèutica, que serveixin per a la nanoformulació i la preparació d'aquestes nanomedicines, que ofereixin el control sobre el procés de l'assemblatge molecular necessari i que puguin ser implementats en l'àmbit industrial seguint normatives de bones pràctiques de fabricació (GMP, de l'anglès *good manufacturing practices*) [26]. El sistema GMP és un conjunt de normes i procediments que s'han de seguir en la fabricació de medicines per a ús humà. Aquest sistema assegura que les medicines que arriben a la fase clínica sempre tinguin la mateixa qualitat i siguin segures.

Per a il·lustrar quines característiques han de tenir els mètodes de fabricació de nanomedicines s'utilitzaran com a exemples resultats de la unitat de recerca Nanomol de l'Institut de Ciència de Materials de Barcelona del Consell Superior

d'Investigacions Científiques (ICMAB-CSIC) obtinguts des de finals dels anys noranta del segle passat i principalment assolits en el marc de Matgas, una associació publicoprivada d'interès econòmic entre l'empresa de gasos Carbuross Metàlics, la Universitat Autònoma de Barcelona, el grup Air Products i el CSIC. Els processos de fabricació que es detallen a continuació s'han desenvolupat al laboratori de processament sostenible de materials de Matgas, que disposa de reactors d'escala de laboratori fins al nivell de planta pilot. L'any 2015, aquest laboratori, conjuntament amb d'altres de l'Estat espanyol, va ser reconegut dins de la infraestructura científica i tècnica singular NANBIOSIS (www.nanbiosis.es), que té com a objectiu processar i desenvolupar nanomedicines. En aquest laboratori, la unitat Nanomol ha desenvolupat nous processos, denominats DELOS, per a la fabricació eficient i escalable de nanomedicines emprant gasos comprimits, com ara el diòxid de carboni (CO₂) comprimit [27-30]. El CO₂ es pot fer servir com a dissolvent en lloc de dissolvents orgànics, perquè aquest gas quan està sota pressió té capacitat de dissolvent i quan l'alliberem d'aquesta pressió deixa de tenir aquesta propietat, amb la qual cosa és molt interessant, perquè no deixa residus en els productes finals. El CO₂ no és tòxic, ni inflamable. Aquest tipus de processament no causa danys a les biomolècules i permet un control molt elevat de l'assemblatge molecular, perquè els processos es controlen per canvis de pressió.

Actualment, la família de processos DELOS per a fabricar nanomedicines està sent implementada i portada a escala industrial per l'empresa emergent i empresa derivada (*spin-off*) Nanomol Technologies, SL, sorgida de la unitat de recerca Nanomol i ubicada també al Parc de Recerca de la Universitat Autònoma de Barcelona (PRUAB). Aquesta implementació a escala industrial s'està fent en el marc d'un acord de transferència de coneixement des de l'ICMAB-CSIC i l'empresa derivada Nanomol Technologies.

La tecnologia DELOS permet fabricar de manera precisa nanomedicines basades en diferents materials microparticulats i nanoparticulats (per exemple, nanosuspensions, sòlids cristal·lins microparticulats, micropartícules polimèriques, nanopartícules lipídiques, nanovesícules funcionalitzades amb lligands directors, etc.) [31-34]. Mitjançant aquesta tecnologia, que està basada en la utilització de CO₂ comprimit, és possible controlar de manera precisa l'assemblatge de molècules i obtenir nanomedicines amb la qualitat necessària per a arribar a la fase clínica [35].

El desenvolupament i la validació dels mètodes de processament DELOS per a fabricar nanomedicines s'han fet en col·laboració estreta amb equips d'investigació i grups de recerca d'altres disciplines (biologia, bioquímica, biotecnologia, farmacologia, física, teoria, etc.), i, sobretot, en el marc de la xarxa virtual del Centre d'Investigació Biomèdica en Xarxa (CIBER) dins l'àrea de Biomedicina, Nanomedicina i Bioenginyeria (www.ciber-bbn.es).

Per exemple, en aquest marc, i amb la col·laboració de grups de recerca de l'Hospital de la Vall d'Hebron, del Parc Científic de Barcelona, de l'Institut de Química Avançada de Catalunya del CSIC i de la Universitat Autònoma de Barcelona, es va desenvolupar i es va fabricar, mitjançant la tecnologia DELOS, una nova nanopartícula liposomal funcionalitzada amb pèptids directores, la qual es troba protegida per diferents patents internacionals [36]. Aquesta nanopartícula és efectiva per a transportar enzims dins les cèl·lules; en concret, s'ha desenvolupat per transportar l'enzim alfa-galactosidasa A (GLA) dins les cèl·lules endotelials i crear una nova nanomedicina per tractar la malaltia minoritària de Fabry [37-38].

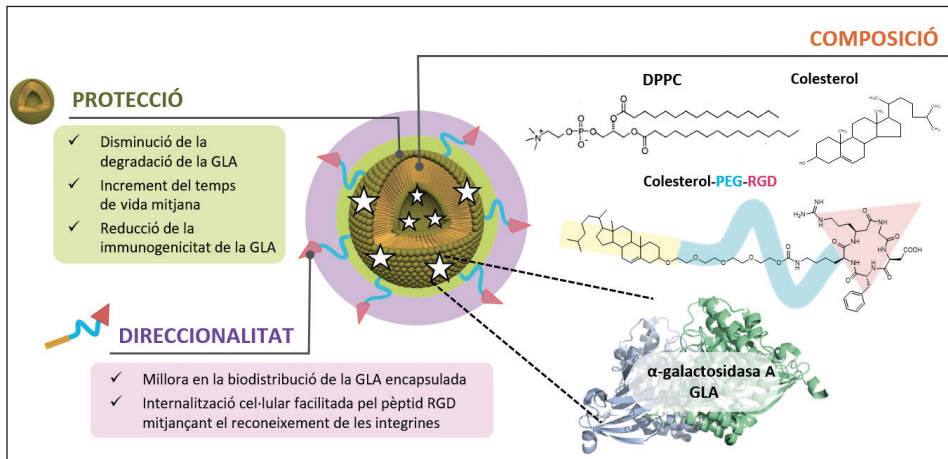


FIGURA 10. Nova nanoformulació liposomal de l'enzim GLA per al tractament per via intravenosa de la malaltia minoritària de Fabry.

FONT: Adaptat de [39].

Els malalts de Fabry no tenen l'enzim GLA i per això generen acumulacions de greix no desitjades a l'organisme. Si no són tractats, moren abans dels cinquanta anys. La malaltia de Fabry és minoritària, però forma part d'un grup de malalties que es diuen *lisosomals*, les quals afecten una de cada cinc mil persones i que, en conjunt, són un seriós problema mèdic. Actualment, aquestes malalties es tracten mitjançant el subministrament exogen de l'enzim als malalts. En el cas de la malaltia de Fabry ja hi ha al mercat tractaments per al subministrament exogen de l'enzim GLA, però són molt poc eficaços i molt costosos. El tractament d'un malalt de Fabry pot arribar a valdre fins a 250.000 euros a l'any.

En el marc del projecte europeu Smart-4-Fabry, s'ha desenvolupat aquesta nova nanomedicina fins a la fase preclínica regulatòria [39-40]. La nova nanoformulació liposomal de l'enzim GLA, il·lustrada a la figura 10, ha resultat ser més

eficaç en l'àmbit preclínic que el fàrmac de referència. Aquesta major eficàcia ha estat reconeguda per l'Agència Europea de Medicaments i la Comissió Europea mitjançant l'atorgament de la designació d'aquesta nova nanoformulació com a *medicament orfe* per al tractament de la malaltia de Fabry [41].

Aquest pas, des de la prova de concepte fins a la fase preclínica regulatòria que s'ha fet en el marc del projecte Smart-4-Fabry, ha estat possible gràcies a un consorci interdisciplinari, en aquest cas, també internacional, i, molt important, format per centres acadèmics i per empreses. Tal com ja s'ha mencionat abans, perquè hi hagi el pas a la fase clínica s'ha de poder produir aquesta medicina sota normatives GMP, cosa que és impossible de fer en el marc acadèmic, i per això es necessiten empreses que s'ocupin d'aquesta translació.

La no estabilitat en el temps de les nanoformulacions liposomals dificulta que es transformin en fàrmacs aprovats per les agències avaluadores dels medicaments i, normalment, és necessari liofilitzar aquestes nanoformulacions per a obtenir nanomedicines segures. Per això, també hi ha molt interès a obtenir nanovesícules que, contràriament als liposomes, siguin termodinàmicament estables i que permetin mantenir les nanocàpsules en formulació líquida sense necessitat de treure'n l'aigua [42]. Al laboratori Nanomol s'han desenvolupat unes nanovesícules que són termodinàmicament estables i que estan constituïdes per tensioactius d'amoni quaternari i esterols, que, quan es troben en una relació molar 1:1, formen les nanovesícules. El que cal subratllar és que els tensioactius, quan estan sols, formen micelles, i els esterols, quan estan sols amb aigua, formen cristalls, i és quan coincideixen tots dos que s'autoassemblen de manera que formen les estructures nanovesiculars [43-45].

Aquestes nanovesícules, anomenades *quatsomes* i que s'han caracteritzat extensament, han resultat ser unes estructures molt interessants per a la nanoformulació de biològics, per diverses raons: tenen una estabilitat col·loidal infinita; els seus components de membrana es poden adquirir amb qualitat farmacèutica; en estar fortament carregades positivament són també preservadores i, per tant, eviten el creixement de microorganismes en la formulació; són fàcilment funcionalitzables amb lligands directors, i estan lliures de metalls [16, 46].

Més recentment, s'han utilitzat els quatsomes per a desenvolupar nanopartícules ultrabrillants d'interès com a agents de contrast per a la bioimatge òptica, és a dir, interessants per a detectar, per exemple, malalties per tècniques de microscòpia òptica. En aquest cas, l'autoassemblatge es produeix entre molècules fluorescents amfifíliques, molècules d'esterols i molècules de tensioactius que, gràcies a la tècnica DELOS de processament amb CO₂, s'autoorganitzen formant nanovesícules fluorescents. Aquest desenvolupament s'ha fet en el marc de projectes interdisciplinaris. Aquí ha estat molt important la tasca dels grups de recerca, que han caracteritzat òpticament aquestes partícules, han comparat les seves caracte-

rístiques amb productes de referència —com, per exemple, els punts quàntics (*quantum dots*)— i han observat per a algunes d'aquestes partícules rendiments quàntics superiors [47-50].

El darrer exemple descriu el desenvolupament d'una nova nanomedicina per al tractament d'úlceres complexes, basada en l'ús de quatsomes i la tecnologia DELOS, i que es va fer en col·laboració amb el Centre d'Enginyeria Genètica i de Biotecnologia de l'Havana (CIGB). El projecte va servir per a desenvolupar un fàrmac basat en factors de creixement epidèrmic, relacionats amb la regeneració d'úlceres complexes, i que es pogués administrar per via tòpica. De fet, el CIGB ja havia desenvolupat fàrmacs basats en aquest factor de creixement epidèrmic, però que, per a ser efectius, han de ser subministrats per via intralesional, perquè a les ferides hi ha proteases que destrueixen aquesta proteïna abans que manifesti la propietat de regeneració epitelial. El que es va fer fou integrar els factors de creixement epidèrmic dins dels quatsomes i desenvolupar, així, un nou candidat a nanomedicina que ha estat provat també en tractaments compassius per a la cura d'úlceres de peu diabètic, per via tòpica [51]. Per al mateix producte, i en el marc d'un projecte finançat per la Generalitat de Catalunya (projecte Nanonafres [52]) es va col·laborar amb l'Hospital de Mataró, l'Hospital de Terrassa, el centre Leitat i alguns centres d'atenció primària. El projecte va ser coordinat per l'empresa Nanomol Technologies i es va avançar en tot el desenvolupament preclínic *in vivo*. Actualment, hi ha la planificació de les fases clíniques 1 i 2, en les quals s'aplicaran les recomanacions fruit de l'intercanvi amb l'Agència Espanyola del Medicament i dels Productes Sanitaris.

EL PAPER DELS SISTEMES D'INNOVACIÓ OBERTA I DE LES EMPRESES EMERGENTS PER AL DESENVOLUPAMENT FARMACÈUTIC DE LES NANOMEDICINES I LA TRANSLACIÓ A LA FASE CLÍNICA

Tal com s'ha vist, és molt important la col·laboració entre acadèmia i empresa perquè aquestes proves de concepte, aquests nous coneixements, que es generen majoritàriament en l'àmbit de l'acadèmia, acabin arribant a ser un benefici per a la nostra societat. Pot servir d'exemple el cas de la formulació de Fabry, que ja es troba en la fase de preclínica regulatòria gràcies al fet que l'empresa Nanomol Technologies va ser capaç de produir aquesta formulació amb una qualitat de bones pràctiques de laboratori (GLP, de l'anglès *good laboratory practices*) i la seva toxicologia va poder ser avaluada per Covance —que ara s'anomena Labcorp—, una empresa anglesa de recerca per contracte (CRO, de l'anglès *contract research organization*). Però encara estem lluny del producte definitiu apte per al consum clínic, ja que, des de l'inici fins al final, tot el procés, anant bé, pot durar de deu a dotze anys.

Per a fer aquest procés, s'ha anat veient arreu del món que el més efectiu és utilitzar el sistema d'innovació oberta (*open innovation*) [53-54]. Durant molts anys, tot el desenvolupament es feia en una mateixa empresa: els investigadors de les empreses farmacèutiques descobrien primer una unitat molecular prometedora, després es feien els assaigs preclínics i, posteriorment, els clínics, i, finalment, s'arribava al mercat. Amb aquesta estratègia, es dedicaven al projecte molt temps i recursos sense cap garantia d'èxit. En canvi, el sistema d'innovació oberta és més efectiu, perquè cada una de les etapes del desenvolupament farmacèutic la fan entitats o empreses diferents (sovint, empreses emergents), més especialitzades en etapes concretes. En aquest model, els centres acadèmics també poden participar de manera més eficient en la primera etapa, fent la prova de concepte i després transferint-la mitjançant una llicència de patent a una empresa ja existent o creant una nova empresa derivada. D'aquesta manera, si el producte cau en alguna etapa del desenvolupament, l'empresa no tanca, mentre que si l'empresa s'encarrega del desenvolupament complet d'un sol producte i aquest producte cau, tot l'esforç s'acaba i tot el coneixement i l'organització generats es desaprofiten. En aquest sentit, i com a exemple d'innovació oberta, la Comunitat Europea ha concedit i finançarà el projecte europeu Phoenix [55], liderat per l'empresa alemanya MyBiotech i pel Luxemburg Institute of Science and Technology (LIST). Aquest projecte té com a objectiu crear una xarxa d'infraestructures en règim d'innovació oberta per donar servei a centres acadèmics i empreses en el desenvolupament i la protecció industrial de nanomedicines. En aquest consorci hi ha tres empreses i un grup de recerca catalans: Nanomol Technologies, especialitzada en la nanoformulació de biològics; Leanbio i GraceBio, que són especialistes en el desenvolupament de processos biotecnològics i en la producció de biomolècules, i la unitat de recerca Nanomol de l'ICMAB-CSIC, experts en el desenvolupament de nanomedicines i en la seva caracterització fisicoquímica. És, sens dubte, un exemple més de la importància del sector químic i del biotecnològic a Catalunya, i també del dinamisme que tenen les empreses emergents en els processos d'innovació en l'entorn empresarial català. Crec que ens n'hem de sentir orgullosos com a país i hem de fer el possible per a mantenir aquest lideratge.

CONCLUSIONS

Actualment, la química supramolecular és un camp de recerca en creixement que impactarà fortament en el desenvolupament de nanomedicines més eficaces i menys tòxiques que les medicines actuals. A més, per a afavorir que les nanomedicines arribin a la pràctica clínica, calen sistemes d'innovació oberta amb una forta col·laboració entre el sector acadèmic i l'empresarial.

Catalunya té uns sectors químic i de la salut potents i ben posicionats, que ens poden ajudar a col·locar-nos a l'avantguarda de les noves tecnologies que es necessiten per a desenvolupar i produir aquests nous productes.

AGRAÏMENTS

En primer lloc, a Jaume Veciana, fins fa poc director del nostre departament a l'ICMAB-CSIC, amb qui vaig començar fent la tesi i amb qui he compartit tots aquests anys de recerca. Moltes gràcies pel seu mestratge i amistat. I a Santi Sala, que va ser el primer doctorand en la línia de processament supramolecular de nanomedicines i que actualment és el conseller delegat de Nanomol Technologies. El seu entusiasme i la seva capacitat de lideratge han estat fonamentals en les accions de transferència.

També el meu agraïment als directors de l'ICMAB Carles Miravittles i Xavier Obradors, dels quals he rebut sempre suport i encoratjament. I a Lluís Calvo, delegat de Presidència del CSIC a Catalunya, per creure en la transferència de tecnologia i en la innovació. No vull oblidar Joan Llibre, director d'R+D de Carburos Metàlics, primer director de Matgas i gran promotor de la innovació oberta i la col·laboració publicoprivada a Catalunya.

Igualment, el meu agraïment a tots els companys del grup Nanomol de l'ICMAB amb qui he fet camí fins ara i, en particular, als investigadors sèniors: Concepció Rovira, Imma Ratera, José Vidal, Marta Mas i Núria Crivillés. I, molt especialment, a les investigadores Elisabet González, Mariana Köber i Judit Morlà, amb qui actualment impulso les meves línies de recerca.

Per fer tot això hem necessitat l'ajuda econòmica i el suport institucional de diferents administracions públiques, les quals no puc oblidar, així com també de nombrosos col·laboradors i experts de diferents disciplines, de diversos llocs del món i de nombroses empreses, a qui no cito per no oblidar-me a ningú.

Dedico aquest discurs a totes aquestes persones, als meus mestres des de l'escola fins ara, i a la meva família, pel seu amor i la seva paciència.

REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES I ALTRES FONTS

- [1] GENERALITAT DE CATALUNYA. ACCIÓ. UNITAT D'ESTRATÈGIA I INTEL·LIGÈNCIA COMPETITIVA. *El sector químic a Catalunya*. Agost 2020. (Píndola Sectorial)
- [2] FROKJAER, S.; OTZEN, D. «Protein drug stability: A formulation challenge». *Nat. Rev. Drug Discov.*, 4 (2005), p. 298-306.
- [3] KOLE, R.; KRAINER, A. R.; ALTMAN, S. «RNA therapeutics: Beyond RNA interference and antisense oligonucleotides». *Nat. Rev. Drug Discov.*, 11 (2012), p. 125-140.
- [4] GANJU, A. [et al.]. «miRNA nanotherapeutics for cancer». *Drug Discov. Today*, 22 (2017), p. 424-432.

- [5] COUVREUR, P.; VAUTHIER, C. «Nanotechnology: Intelligent design to treat complex disease». *Pharm. Res.*, 23 (2006), p. 1417-1450.
- [6] BROWN, L. R. «Commercial challenges of protein drug delivery». *Expert Opin. Drug Deliv.*, 2 (2005), p. 29-42.
- [7] MARSHALL, S. A. [et al.]. «Rational design and engineering of therapeutic proteins». *Drug Discov. Today*, 8 (2003), p. 212-221.
- [8] WHITEHEAD, K. A.; LANGER, R.; ANDERSON, D. G. «Knocking down barriers: Advances in siRNA delivery». *Nat. Rev. Drug Discov.*, 8 (2009), p. 129-138.
- [9] QIN, X. [et al.]. «Rational design of nanocarriers for intracellular protein delivery». *Adv. Mater.*, 31 (2019), p. 1-32.
- [10] TOMALIA, D. A. [et al.]. «A new class of polymers: Starburst-dendritic macromolecules». *Polym. J.*, 17 (1985), p. 117-132.
- [11] HAWKER, C. J.; FRÉCHET, J. M. «Preparation of polymers with controlled molecular architecture. A new convergent approach to dendritic macromolecules». *J. Am. Chem. Soc.*, 112 (1990), p. 7638-7647.
- [12] PANDEY, N.; MAHARA, K. «Dendrimers: A novel carrier for drug delivery system». *PharmaTutor*, 5 (10) (2017), p. 48-54.
- [13] HUBBELL, J. A. «Enhancing drug function». *Science*, 300 (2003), p. 595-596.
- [14] RÖSLER, A.; VANDERMEULEN, G. W.; KLOK, H. A. «Advanced drug delivery devices via self-assembly of amphiphilic block copolymers». *Adv. Drug Delivery Rev.*, 53 (2001), p. 95-108.
- [15] WANG, Y. [et al.]. «Co-delivery of drugs and DNA from cationic core-shell nanoparticles self-assembled from a biodegradable copolymer». *Nat. Mater.*, 5 (2006), p. 791-796.
- [16] GRIMALDI, N. [et al.]. «Lipid-based nanovesicles for nanomedicine». *Chem. Soc. Rev.*, 45 (2016), p. 6520-6545.
- [17] GERMAIN, M. [et al.]. «Delivering the power of nanomedicine to patients today». *J. Control. Release*, 326 (2020), p. 164-171.
- [18] TORCHILIN, V. «Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers». *Nat. Rev.*, 4 (2005), p. 145-160.
- [19] LEE, S. W. L. [et al.]. «MicroRNA delivery through nanoparticles». *J. Control. Release*, 313 (2019), p. 80-95.
- [20] FERNANDEZ-PIÑEIRO, I.; BADIOLA, I.; SANCHEZ, A. «Nanocarriers for microRNA delivery in cancer medicine». *Biotechnol. Adv.*, 35 (2017), p. 350-360.
- [21] DAVIS, M. E.; CHEN, Z. G.; SHIN, D. M. «Nanoparticle therapeutics: An emerging treatment modality for cancer». *Nat. Rev. Drug Discov.*, 7 (2008), p. 771-782.
- [22] BARENHOLZ, Y. «Doxil® - the first FDA-approved nano-drug: Lessons learned». *J. Control. Release*, 160 (2012), p. 117-134.
- [23] PEER, D. [et al.]. «Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy». *Nat. Nanotechnol.*, 2 (2007), p. 751-760.
- [24] EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA). COMMITTEE FOR HUMAN MEDICINAL PRODUCTS (CHMP). *Reflection paper on the data requirements for intravenous liposomal products developed with reference to an innovator liposomal product*. Febrer 2013, 13 p. EMA/CHMP/806058/2009/Rev. 02.
- [25] EUROPEAN TECHNOLOGY PLATFORM ON NANOMEDICINE (ETPN); ERA-NET EURO-NANOMED. *Strategic research and innovation agenda for nanomedicine 2016-2030*. 2019.

- [26] ELIZONDO, E.; VECIANA, J.; VENTOSA, N. «Nanostructuring molecular materials as particles and vesicles for drug delivery, using compressed and supercritical fluids». *Nanomedicine*, 7 (2012), p. 1391-1408.
- [27] VENTOSA, N. [et al.]. *Procedure for the obtainment of solid micro- or nanoparticles*. Patent WO 2010/076360 A1. 2008.
- [28] VENTOSA, N. [et al.]. *Method for obtaining micro- and nano-disperse systems*. Patent WO 2006/079889 A1. 2005.
- [29] VENTOSA, N. [et al.]. «Depressurization of an expanded liquid organic solution (DELOS): A new procedure for obtaining submicron- or micron-sized crystalline particles». *Cryst. Growth & Des.*, 1 (2001), p. 299-303.
- [30] GRIMALDI, N. [et al.]. «Pressure-responsive, surfactant-free CO₂-based nanostructured fluids». *ACS Nano*, 11 (2017), p. 10774-10784.
- [31] ELIZONDO, E. [et al.]. «High loading of gentamicin in bioadhesive PVM/MA nanostructured microparticles using compressed Carbon-Dioxide». *Pharm. Res.*, 28 (2011), p. 309-321.
- [32] IMBULUZQUETA, E. [et al.]. «Novel bioactive hydrophobic gentamicin carriers for the treatment of intracellular bacterial infections». *Acta Biomater.*, 7 (2011), p. 1599-1608.
- [33] SALA, S. [et al.]. «Crystallization of microparticulate pure polymorphs of active pharmaceutical ingredients using CO₂-expanded solvents». *Cryst. Growth & Des.*, 12 (2012), p. 1717-1726.
- [34] CABRERA, I. [et al.]. «Multifunctional nanovesicle-bioactive conjugates prepared by a one-step scalable method using CO₂-expanded solvents». *Nano Lett.*, 13 (2013), p. 3766-3774.
- [35] MERLO-MAS, J. [et al.]. «Application of quality by design to the robust preparation of a liposomal GLA formulation by DELOS-susp method». *J. Supercrit. Fluids*, 173 (2021), 105204.
- [36] VENTOSA, N. [et al.]. *Functionalized liposomes useful for the delivery of bioactive compounds*. Patent WO 2014/001509 A1. 2012.
- [37] CABRERA, I. [et al.]. « α -galactosidase-A loaded-nanoliposomes with enhanced enzymatic activity and intracellular penetration». *Adv. Healthc. Mater.*, 5 (2016), p. 829-840.
- [38] TOMSEN-MELERO, J. [et al.]. «Impact of chemical composition on the nanostructure and biological activity of α -galactosidase-loaded nanovesicles for Fabry disease treatment». *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 13 (2021), p. 7825-7838.
- [39] TOMSEN-MELERO, J. [et al.]. «Projecte europeu "Smart-4-Fabry" per al desenvolupament d'una nova nanomedicina per al tractament de la malaltia de Fabry». *Revista de la SCQ*, 18 (2019), p. 100-110.
- [40] 720942, SMART-4-FABRY: «Smart multifunctional GLA-nanoformulation for Fabry disease». EC. H2020-NMBP-2016-2017. Finançament: 5,8 M €. Coordinació: N. Ventosa (2017-2020).
- [41] EUROPEAN COMMISSION. COMMUNITY REGISTER OF ORPHAN MEDICINAL PRODUCTS. Nom del producte: EU/3/20/2396. Número de designació: EU/3/20/2396. 2021. <<https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/html/o2396.htm>>.
- [42] ANTONIETTI, M.; FÖRSTER, S. «Vesicles and liposomes: A self-assembly principle beyond lipids». *Adv. Mater.*, 15 (2003), p. 1323-1333.

- [43] FERRER-TASIES, L. [et al.]. «Quatsomes: Vesicles formed by self-assembly of sterols and quaternary ammonium surfactants». *Langmuir*, 29 (2013), p. 6519-6528.
- [44] GUMI-AUDENIS, B. [et al.]. «Insights into the structure and nanomechanics of a quatsome membrane by force spectroscopy measurements and molecular simulations». *Nanoscale*, 10 (2018), p. 23001-23011.
- [45] ELIZONDO, E. [et al.]. «Influence of the preparation route on the supramolecular organization of lipids in a vesicular system». *J. Am. Chem. Soc.*, 134 (2012), p. 1918-1921.
- [46] VARGAS-NADAL, G. [et al.]. «MKC-quatsomes: A stable nanovesicle platform for bio-imaging and drug-delivery applications». *Nanomedicine: Nanotechnology, Biol. Med.*, 24 (2020), 102136.
- [47] SILBAUGH, D. A. «Highly fluorescent silicon nanocrystals stabilized in water using quatsomes». *Langmuir*, 33 (2017), p. 14366-14377.
- [48] ARDIZZONE, A. [et al.]. «Nanostructuring lipophilic dyes in water using stable vesicles, quatsomes, as scaffolds and their use as probes for bioimaging». *Small*, 14 (16) (2018).
- [49] ARDIZZONE, A. [et al.]. «Highly stable and red-emitting nanovesicles incorporating lipophilic diketopyrrolopyrroles for cell imaging». *Chem. - A Eur. J.*, 24 (2018), p. 11386-11392.
- [50] MORLA-FOLCH, J. [et al.]. «Dye-loaded quatsomes exhibiting FRET as nanoprobe for bioimaging». *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 12 (2020), p. 20253-20262.
- [51] FERRER-TASIES, L. [et al.]. «Recombinant human epidermal growth factor/quatsome nanoconjugates: A robust topical delivery system for complex wound healing». *Adv. Ther.*, 2000260 (2021), p. 1-14.
- [52] COMRDI15-1-0023, NANONAFRES: «Estudis preclínics i clínics de l'aplicació tòpica de nanovesícules (quatsomes) amb EGF en úlceres venoses cròniques». RIS3CAT (Generalitat de Catalunya). Finançament: 2,4 M €. Coordinació: S. Sala (Nanomol Technologies) (2016-2020).
- [53] HUNTER, J.; STEPHENS, S. «Is open innovation the way forward for big pharma?». *Nat. Rev. Drug Discov.*, 9 (2010), p. 87-88.
- [54] EATON, M. A. W. «How do we develop nanopharmaceuticals under open innovation?». *Nanomedicine: Nanotechnology, Biol. Med.*, 7 (2011), p. 371-375.
- [55] 953110, PHOENIX: «Pharmaceutical open innovation test bed for enabling nanopharmaceutical innovative products». EC project, Innovation Action DT-NMBP-06-2020. Finançament: 11 M €. Coordinació: T. Serchi (Luxembourg Institute of Science and Technology [LIST]) i N. Günday-Türelí (MyBiotech) (2021-2024).

