

NANOMATERIALI E NANOMEDICINA

Emiliana Costa - Michela Cattabriga

di cosa parleremo

- Perché nanomateriali e nanotecnologia in medicina
- Nanomedicina
- Alcune applicazioni delle nanoparticelle in ambito biomedico:
 - trasporto di farmaci
 - farmaci nanostrutturati
- Esperienza di laboratorio : Ossido di zinco nanoparticellare: sintesi, caratterizzazione e prove in vitro per saggiarne l'attività antimicrobica
- Problemi associati all'uso delle nanotecnologie in medicina: aree di incertezza

destinatari:

classe 2[^] ITI - disciplina **STA** (Scienze e Tecnologie Applicate)

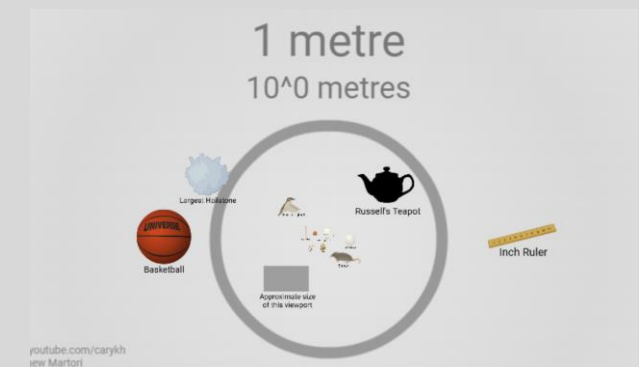
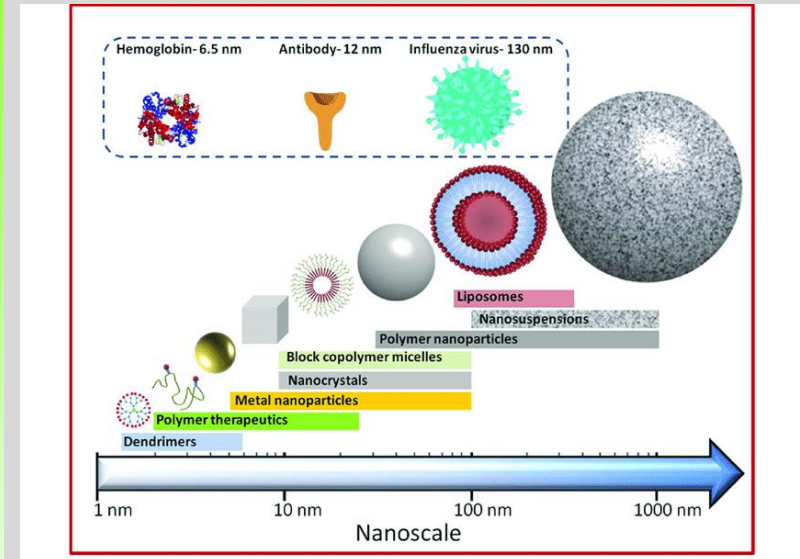
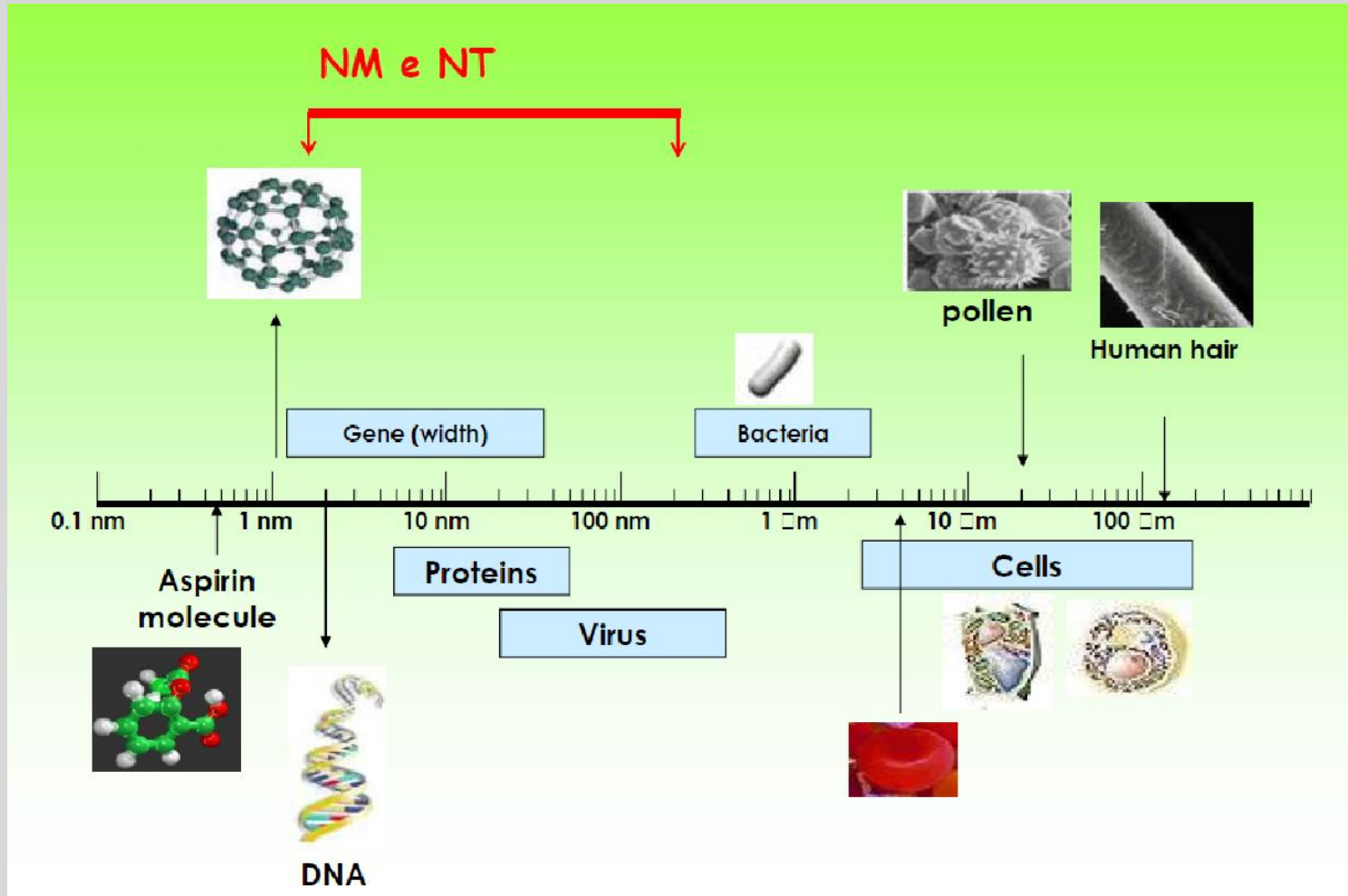
Proprietà dei materiali

Materiali nano-strutturati

NANOSCIENZE e NANOTECNOLOGIE

classe 5[^] ITI - disciplina **Chimica Organica e Biochimica**

PERCHÉ NANOMATERIALI E NANOTECH IN MEDICINA



“Nanotecnologie, magnetismo e tecniche di analisi dati in medicina” A. Lascialfari(1) , F. Brero(1) , L. Bianchini(2)- (1) Dip. di Fisica and INSTM, Università degli studi di Pavia, INFN, Italy - (2) Dip. di Fisica and INSTM, Università degli studi di Milano, INFN, Italy

<https://htwins.net/scale2/>

Le nanoparticelle hanno una dimensione simile a quella delle molecole e dei sistemi biologici e le loro proprietà chimiche, fisiche, elettriche e biologiche possono essere sfruttate in medicina.

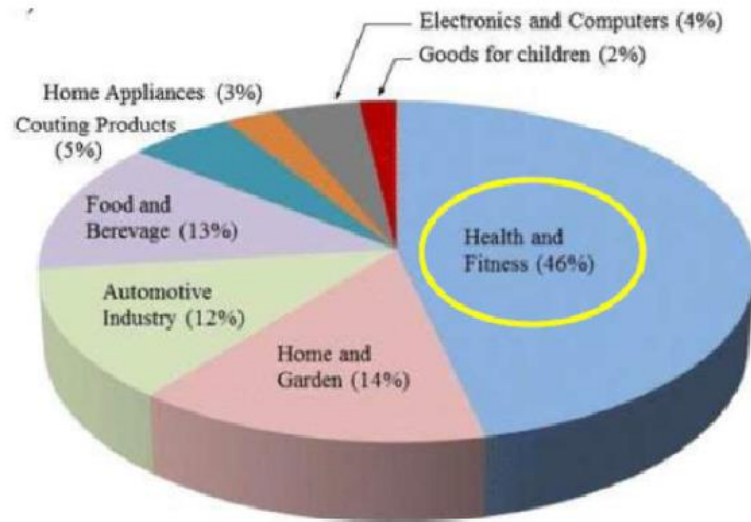
A seconda della loro dimensione, sono in grado di superare barriere e penetrare diverse strutture biologiche:

- se hanno dimensioni inferiori a **40 nm** riescono ad entrare nel **nucleo**
- se sono **inferiori a 35 nm** possono penetrare anche la **barriera emato-encefalica**

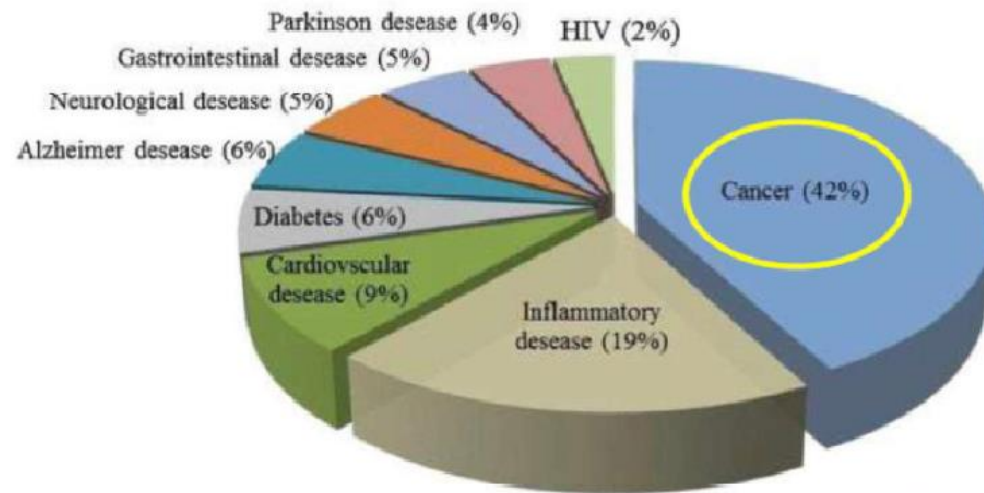
I nanomateriali possono essere ricoperti in superficie con polimeri o molecole «bioriconoscibili» che ne migliorano la biocompatibilità o la selettività d'azione su determinati target biologici.

Inoltre hanno un **rapporto superficie/volume** maggiore di diversi ordini di grandezza rispetto a particelle più grandi: possono essere usati quindi come carrier, trasportando un gran numero di molecole di farmaco nei tessuti bersaglio dove il farmaco viene liberato una volta che il trasportatore si degrada.

Inoltre le nanoparticelle possono essere **funzionalizzate** con metalli e semiconduttori che possono impartire proprietà come fluorescenza e magnetismo utili in diagnostica.



PERCENTUALE DI VARI
PRODOTTI DI CONSUMO
CONTENENTI NANOMATERIALI



PERCENTUALE DI **ARTICOLI PUBBLICATI** SU
RIVISTE SCIENTIFICHE RIGUARDANTI
L'APPLICAZIONE DI NANOPARTICELLE IN
VARIE MALATTIE

sulla base dei dati ottenuti dall'inventario dei prodotti di consumo
[<http://www.nanotechproject.org/>] e Scopus (consultato il 17 giugno 2014).

Nanomedicinali sul mercato dell'UE

I nanomedicinali sono presenti sul mercato da più di 20 anni. Le autorità europee valutano ogni farmaco prima di approvarlo e pubblicano le informazioni concernenti l'uso e le caratteristiche di ciascuno di essi.

Il primo nanomedicinale è stato autorizzato dalla Commissione europea nel 1996. Per ogni farmaco che valuta, l'Agenzia europea per i medicinali (EMA) pubblica una relazione pubblica di valutazione europea (EPAR) su proprio sito internet, illustrando l'uso e le caratteristiche del farmaco.

Seguono alcuni esempi di nanomedicinali già presenti sul mercato.



Medicinale	Principio attivo e piattaforma/tecnologia	Uso	Vantaggi della nanoformulazione
<p>Abraxane (http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000778/human_med_000620.jsp&mid=WC0b01ac058001d124)</p>	<p>Scappensione coloidale priva di solventi di paclitaxel legata all'albumina (principio attivo) formulato in nanoparticelle sferiche.</p>	<p>Trattamento del carcinoma mammario, dell'adenocarcinoma del pancreas, del cancro polmonare non a piccole cellule</p>	<p>Problemi di solubilità del principio attivo risolto (il paclitaxel di per sé non è solubile nell'acqua). Tossicità meno frequente e meno grave (nausea, vomito, affaticamento, artralgia, mialgia, atopia) rispetto alle formulazioni precedenti.</p>
<p>Caelyx (http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000089/human_med_000683.jsp&mid=WC0b01ac058001d124)</p>	<p>Doxorubicina cloridrato in una formulazione di liposomi pegilati</p>	<p>Trattamento del tumore mammario metastatico, del tumore ovarico, del sarcoma di Kaposi (un tumore dei vasi sanguigni), del mieloma multiplo</p>	<p>Maggiore accumulo nelle cellule tumorali e aumento dei tempi di circolazione - riduzione della cardiotossicità della doxorubicina</p>
<p>CosmoFe/INFeD/Ferrisat* (http://www.cosmofer.com/media/248856/Cosmofer_Product_Monograph_2009.pdf)</p>	<p>Nanoparticelle di ferro rivestite di dextran per somministrazione parenterale (iniezione)</p>	<p>Trattamento dell'anemia</p>	<p>Complesso ferro-carboidrati più stabile rispetto alle formulazioni non nano - ridotta tossicità (ridotta nefro tossicità, accumulo di ferro intracellulare).</p>
<p>Rapamune (http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000273/human_med_001010.jsp&mid=WC0b01ac058001d124)</p>	<p>Particelle di sirolimus in nanodispersione colloidale di nanocristalli stabilizzata per ridurre la dimensione delle particelle</p>	<p>Profilassi del rigetto d'organo in pazienti che hanno ricevuto trapianto di rene</p>	<p>Migliore stabilità e biodisponibilità</p>

*EPAR non disponibile perché l'autorizzazione non è stata concessa attraverso la procedura europea.

Nanomedicina

L'applicazione delle nanotecnologie alla medicina ha fatto emergere un nuovo settore applicativo che ha preso il nome di nanomedicina.

La NANOMEDICINA viene definita come l'applicazione della scienza e della tecnologia per la

- Diagnostica
- Il trattamento
- La prevenzione

delle malattie utilizzando strumenti e conoscenze a scala nanometrica

Nanomedicina

La nanomedicina abbraccia sotto discipline che, in molte situazioni si sovrappongono ed utilizzano tecniche di indagine comuni:

- Acquisizione ed elaborazione di immagini per la diagnostica
- Nanomateriali e nanosistemi
- Nuovi sistemi per il trasporto dei farmaci
- Applicazioni in campo di analisi
- Aspetti clinici, regolatori e tossicologici

Nanomateriali - metodi di trasporto e consegna dei farmaci

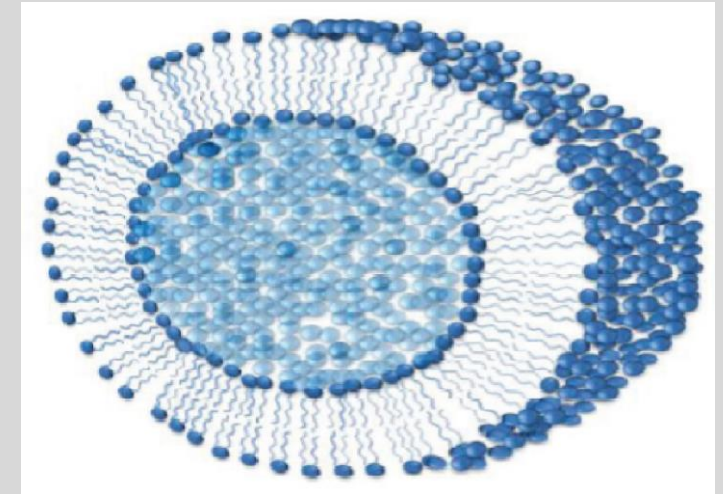
- Ampliamento molecole che spesso non sono utilizzabili per solubilità o a causa di problemi legati alla metabolizzazione cellulare
- Utilizzo nella **terapia genica** come **trasporto di acidi nucleici** nelle cellule. Oggi sono usati vettori virali con il rischio di una risposta immunitaria letale ed anche per la bassa efficienza di trasferimento.
- Forma e dimensione delle particelle, oltre alle caratteristiche proprie del materiale, hanno un ruolo fondamentale nei processi di degradazione, dinamica vascolare, targeting
- Le NANOPARTICELLE per il trasporto dei farmaci si suddividono in base al tipo di materiale utilizzato, **ORGANICHE** e **INORGANICHE**, e sono classificate in base alla tipologia di bersaglio (targeting) che può essere **ATTIVO** o **PASSIVO**.
- In commercio ci sono già farmaci basati su modalità di consegna innovative ad esempio per i tumori, la meningite, l'epatite C e le infezioni.

TRASPORTO E CONSEGNA FARMACI

nanoparticelle ORGANICHE

LIPOSOMI (50 nm - alcuni micron)

- Vescicole artificiali assemblate a partire da **fosfolipidi** per formare una struttura sferica a doppio strato che circonda una piccola area acquosa.
- Hanno buona biocompatibilità e biodegradabilità e isolano efficacemente il farmaco al loro interno. Purtroppo, hanno una bassa efficienza di incapsulamento, il rilascio del carico è rapido e la loro conservazione non è ottimale. Restano comunque i sistemi più consolidati a livello clinico per la somministrazione dei farmaci. Ad es. l'antitumorale DOXORUBICINA LIPOSOMIALE in questa preparazione ha minori effetti collaterali e miglior tempo di circolazione nel sangue



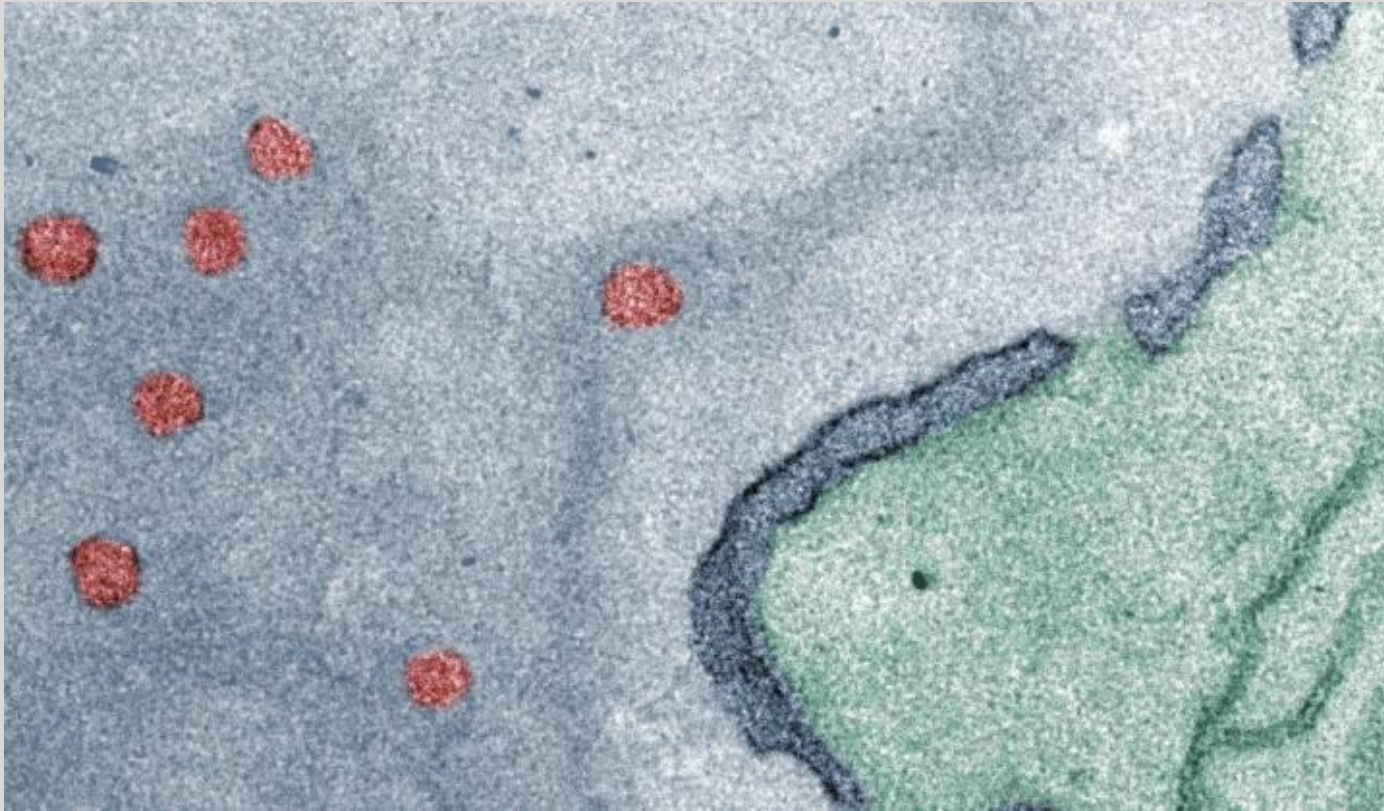
“A review on role of nanostructure in drug delivery system”
S.Sagadevan (1) and M. Periasamy (2) – (1) Dept. of Physics,
Sree Sastha Institute of Engineering and Technology,
Chembarambakkam, Chennai-600 123, India – (2) Dept. of
Biotechnonology, Sree Sastha Institute of Engineering and
Technology, Chembarambakkam, Chennai-600 123, India

TRASPORTO E CONSEGNA FARMACI

nanoparticelle ORGANICHE

NANOPARTICELLE POLIMERICHE (10 - 100 nm)

- Si tratta di particelle prodotte con polimeri sintetici biodegradabili (ad es. i poliacrilati) o con polimeri naturali (es. alginato, albumina, collagene).
- Un gruppo di ricerca svizzero è riuscito a far entrare nel nucleo delle cellule viventi dei piccoli container artificiali detti **POLIMERSOMI** (circa 60 nm) nel nucleo delle cellule viventi. I polymersomi sono vescicole polimeriche biocompatibili in grado di attraversare la membrana e trasportare i farmaci direttamente al nucleo. Possibili applicazioni riguardano i chemioterapici e la terapia genica. Per ora è stata studiata la loro capacità di spostamento e consegna di coloranti.



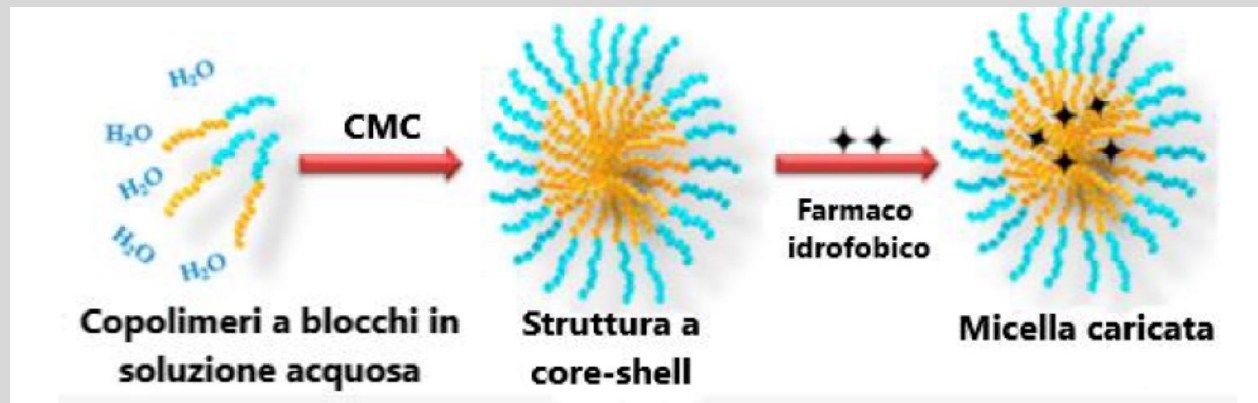
To enter into the cell nucleus (grey), the polymersomes (red) must selectively translocate across the nuclear membrane (dark blue) via the nuclear pore complexes (gaps in the membrane).
Image: Christina Zelmer, University of Basel, and Evi Bieler, Swiss Nanoscience Institute

TRASPORTO E CONSEGNA FARMACI

nanoparticelle ORGANICHE

MICELLE POLIMERICHE (10 - 100 nm)

- Si formano quando molecole polimeriche si associano spontaneamente in un ambiente acquoso. Il loro nucleo resta idrofobico ed è compatibile con i farmaci poco solubili.



Tesi di Laurea Magistrale "Nanogel polimerici e il loro impiego come carrier ", Relatore prof. Marco Sangermano, Candidata Giulia Mangino - Marzo 2021 - POLITECNICO DI TORINO - Collegio di Ingegneria Chimica e dei Materiali Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria dei Materiali

- Formazione di micelle a partire da copolimeri a blocchi in soluzione acquosa e successivo incapsulamento del farmaco idrofobico all'interno del nucleo della micella

TRASPORTO E CONSEGNA FARMACI

nanoparticelle INORGANICHE

NANOPARTICELLE D'ORO (1 - 100 nm)

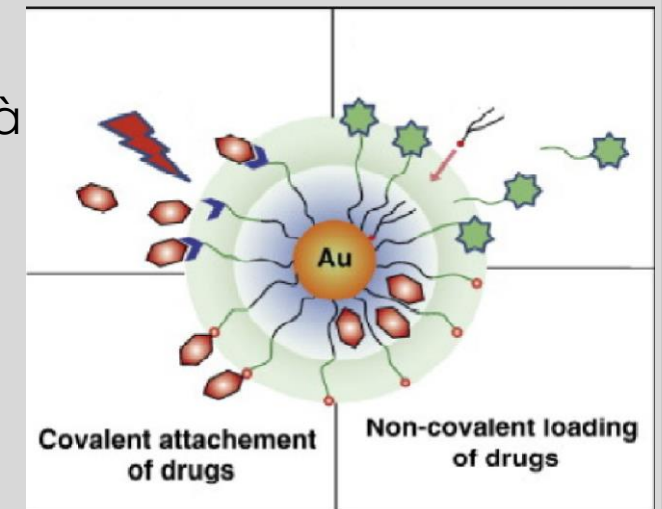
utili per la consegna di farmaci «classici» e anche di geni
tossicità bassa e sintesi facile.

forme più utilizzate sono la sfera e i nanorodi (nanorods)

Sono utilizzate in molti ambiti della biomedicina grazie alle loro proprietà ottiche, chimico fisiche ed elettriche che possono essere modificate in base alla forma e alle dimensioni della nanoparticella, ma anche dall'ambiente circostante.

Le nanoparticelle di oro possono essere legate a **farmaci** offrendo un incremento dell'efficacia terapeutica. La combinazione delle particelle d'oro con l'irradiazione laser porta a controllare il rilascio dei farmaci dando benefici terapeutici.

Le nanoparticelle d'oro hanno anche mostrato un trasporto selettivo del farmaco all'interno del nucleo della cellula tumorale. Quando entra nella cellula tumorale si ha la possibilità di indurre ipertermia usando radiofrequenze non invasive.

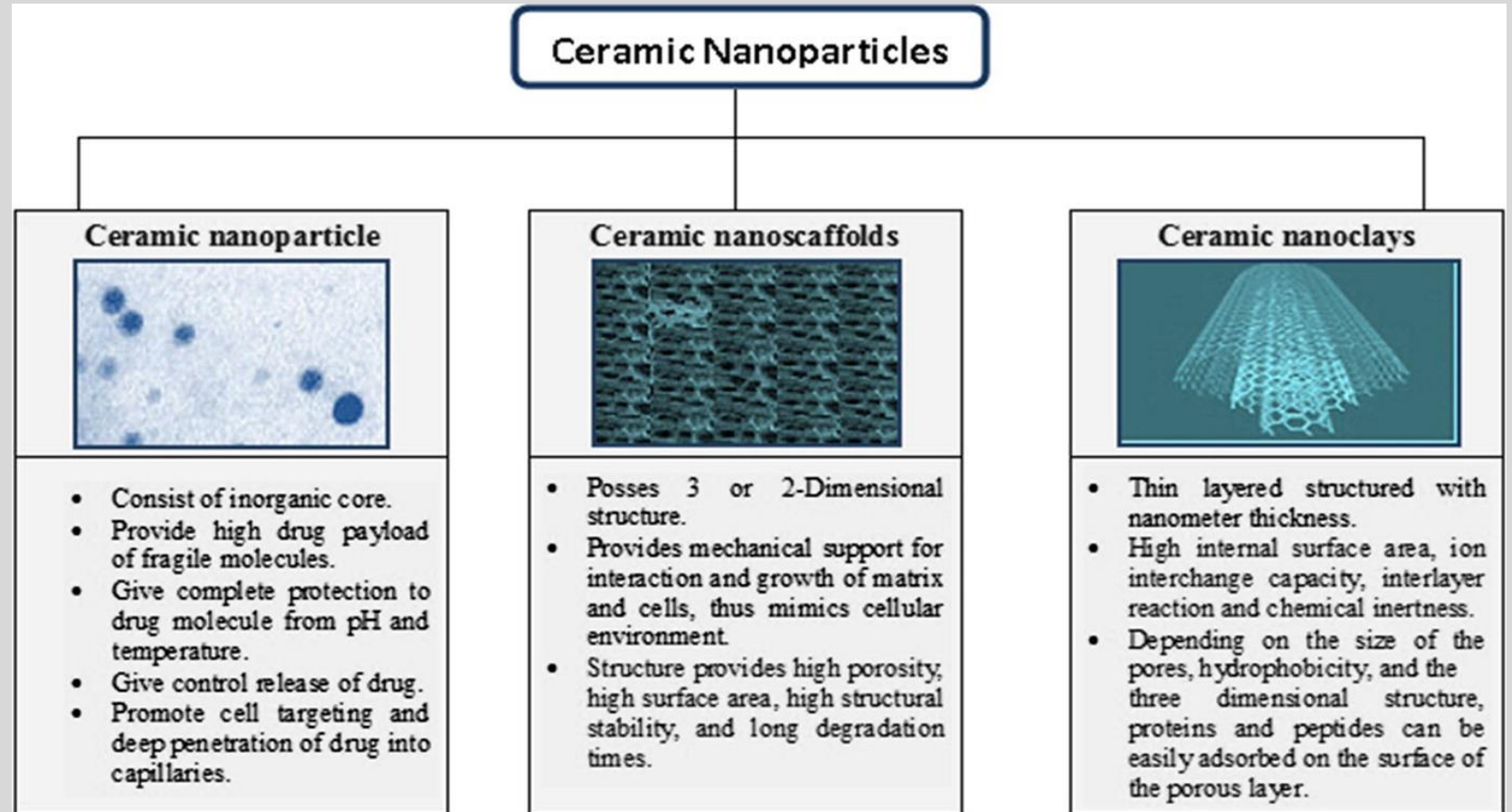


“A review on role of nanostructure in drug delivery system”
S.Sagadevan (1) and M. Periasamy (2) – (1) Dept. of Physics,
Sree Sastha Institute of Engineering and Technology,
Chembarambakkam, Chennai-600 123, India – (2) Dept. of
Biotechnonology, Sree Sastha Institute of Engineering and
Technology, Chembarambakkam, Chennai-600 123, India

nanoparticelle INORGANICHE

NANOPARTICELLE DI CERAMICA (20 -100 nm)

- particelle fabbricate con composti dalle caratteristiche **porose**, come la **silice**, che formano **canali interni e una trama a nido d'ape**.
- biocompatibilità e facilità di sintesi
- Le applicazioni in vitro hanno dato buoni risultati ma non essendo biodegradabili sono in corso studi sul rischio di accumulo nell'organismo.



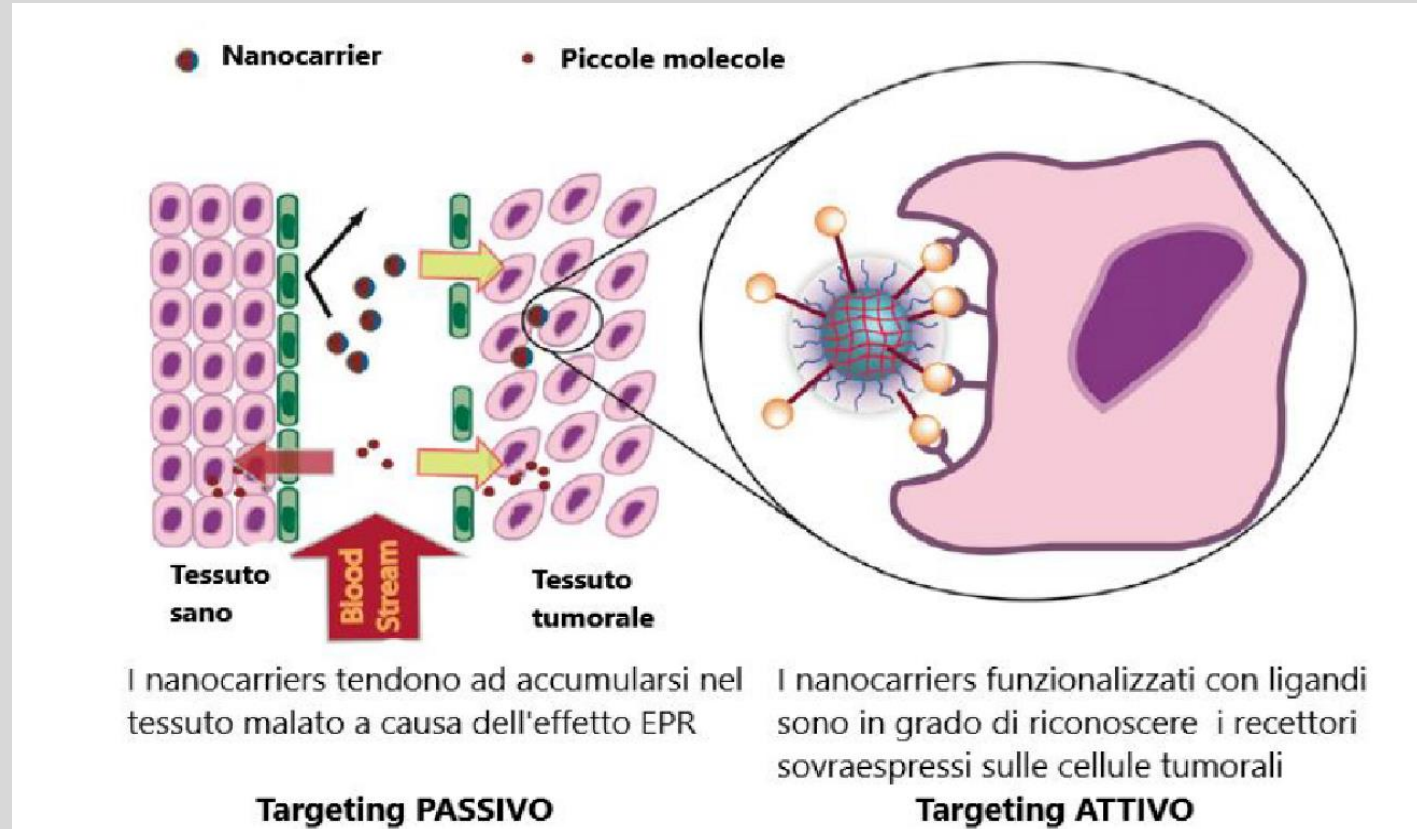
TRASPORTO E CONSEGNA FARMACI

nanoparticelle INORGANICHE

NANOMATERIALI A BASE DI CARBONIO

- Molto studiati sono i nanotubi di carbonio (diametro da 2,5 a 100 nanometri) e i nanodiamanti (da 2 a 9 nanometri): possono essere innestati sulla loro superficie con altre molecole (acidi nucleici, proteine, anticorpi...). Lo svantaggio principale è la tossicità a livello cellulare dato che possono inibire la proliferazione cellulare o indurne la morte. Per questo le sperimentazioni a livello biomedico sono poche

TARGETING ATTIVO E PASSIVO



Tesi di Laurea Magistrale "Nanogel polimerici e il loro impiego come carrier ", Relatore prof. Marco Sangermano, Candidata Giulia Mangino - Marzo 2021 - POLITECNICO DI TORINO - Collegio di Ingegneria Chimica e dei Materiali Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria dei Materiali

- Confronto tra il targeting passivo basato sull'effetto EPR e il targeting attivo che agisce riconoscendo specifici recettori delle cellule malate

NANOTERAPEUTICI

- Negli ultimi anni, diversi agenti batterici nanostrutturati come ad esempio metalli e ossidi metallici sono stati studiati e riconosciuti come efficaci:
- argento (Ag)
- ossido di argento (Ag_2O)
- biossido di titanio (TiO_2)
- **ossido di zinco (ZnO)**
- oro (Au)
- ossido di calcio (CaO)
- silicio (Si)
- ossido di magnesio (MgO)

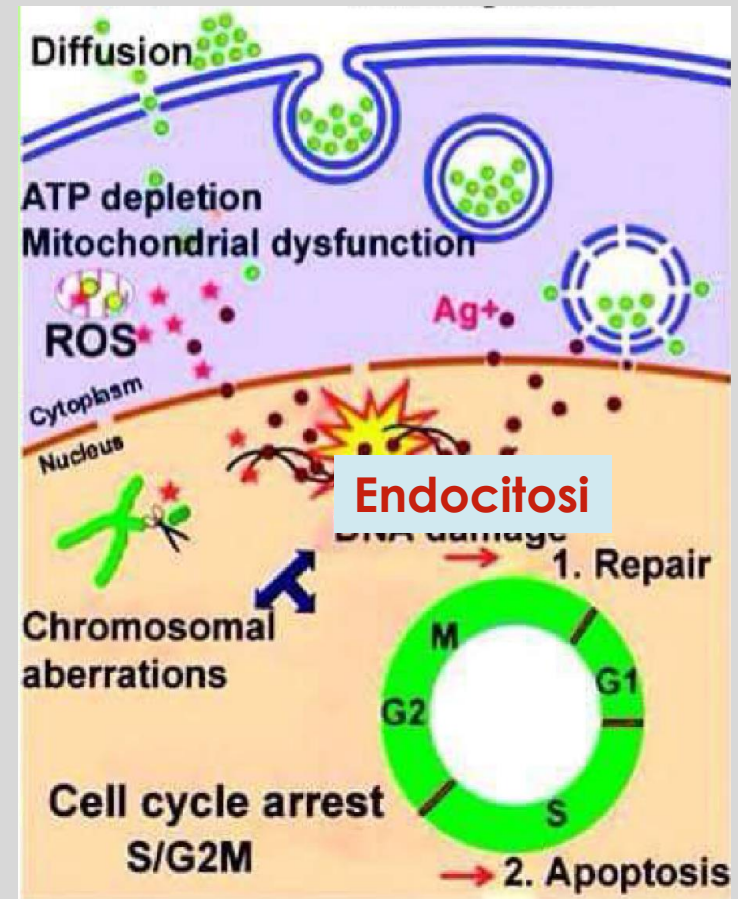
NANOTERAPEUTICI

- Le nanoparticelle di ossido di zinco sono ampiamente usate nei **prodotti per la cura personale** come ad esempio nei cosmetici e nelle creme solari per le sue proprietà di assorbire la luce UV e per le sue proprietà antimicrobiche. Viene usato anche nell'industria tessile come antibatterico e deodorante.
- Le nanoparticelle di ossido di zinco sono comunemente usate come **additivo alimentare** e la FDA (US Food and Drug Administration) la considera sostanza «generalmente riconosciuta come sicura».
- Nell'uomo lo zinco è presente in tracce come elemento in diversi organi come il cervello, i muscoli, le ossa, la pelle. E' un componente fondamentale in vari sistemi enzimatici e come tale prende parte nel metabolismo e gioca un ruolo fondamentale nella sintesi di proteine, nella sintesi di acidi nucleici, nell'ematopoiesi e nella neurogenesi.

NANOTERAPEUTICI

PROPRIETÀ ANTICANCEROGENE DELLE NANOPARTICELLE DI OSSIDO DI ZINCO

Vi sono molti articoli scientifici che evidenziano questo tipo di attività dell'ossido di zinco ad esempio nei confronti di cellule tumorali del fegato. L'azione citotossica si evidenzia attraverso un aumento intracellulare dei cosiddetti ROS (specie chimiche ossidanti reactive oxygen species) portando alla morte programmata della cellula tumorale (apoptosi).



“Tissue distribution and acute toxicity of silver after intravenous administration in mice: nano-specific and size-dependent effects” – C.Recordati, M.De Maglie, S.Bianchessi, S. Argentiere, C.Cella, S.Mattiello, F.Cubadda, F.Aureli, M.D’Amato, A.Raggi, C.Lenardi, P.Molani and E.Scanziani – Particles and Fibre Toxicology (2016) 13:12

PREPARAZIONE DI NANOPARTICELLE di ZnO

NANOMATERIALI
E NANOMEDICINA

Sintesi di nanoparticelle di ZnO

Ref. International Scholarly Research Network, ISRN Nanotechnology; volume 2012 Article ID 372505

Synthesis, Characterization and Spectroscopic Properties of ZnO Nanoparticles

Nitrato di zinco, idrossido di sodio ed etanolo sono stati acquistati ed usati senza ulteriore purificazione

- 1) Una soluzione 0,5M di nitrato di zinco ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) in etanolo acquoso viene mantenuto in forte agitazione costante tramite un agitatore magnetico fino a completo dissolvimento del nitrato di zinco (1 ora)
- 2) Nello stesso modo viene preparata una soluzione 0,9M di NaOH fino a completo dissolvimento (1 ora)
- 3) Dopo il completo scioglimento del nitrato di zinco, la soluzione di idrossido di sodio viene aggiunta goccia a goccia (lentamente per 45 minuti) facendo toccare alla goccia la parete del contenitore e mantenendo una forte agitazione
- 4) La reazione viene lasciata in forte agitazione per 2 ore dopo aver completato l'aggiunta di idrossido di sodio e poi lasciata decantare tutta la notte
- 5) Il supernatante viene accuratamente separato e centrifugato per 10 minuti
- 6) Il precipitato di ZnO NPs viene lavato tre volte con acqua distillata ed etanolo ed alla fine seccato a 60°C. Durante l'essiccazione, $\text{Zn}(\text{OH})_2$ si converte completamente in ZnO

15/02/2022

SCHEDA DI LABORATORIO

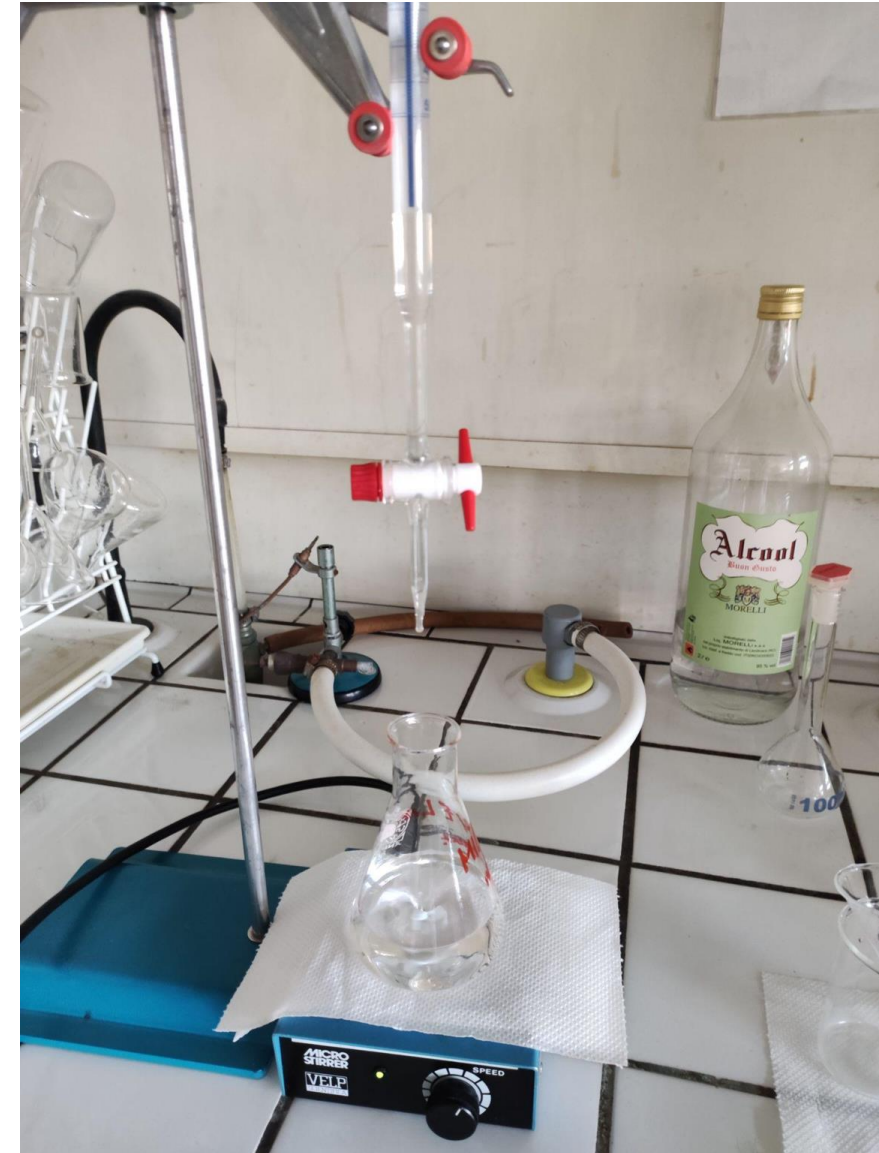
Preparazione di nanoparticelle di ossido di zinco

Procedimento:

1. 200 mL di soluzione di nitrato di zinco ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) in alcool etilico 0,5 M : agitazione costante per 1 ora – fino a completo dissolvimento
2. 200 mL di soluzione di NaOH 0,9 M : agitazione costante per 1 ora – fino a completo dissolvimento
3. Dopo aggiungere goccia a goccia la sol. di idrossido di sodio alla soluzione di nitrato di zinco – forte agitazione. Continuare agitazione per 2 ore e lasciare decantare tutta notte
4. Separare e centrifugare il surnatante (10 minuti)
5. Lavare tre volte con acqua distillata ed etanolo e seccare a 60°C. Durante l'essiccazione, $\text{Zn}(\text{OH})_2$ si converte completamente in ZnO

Osservazioni

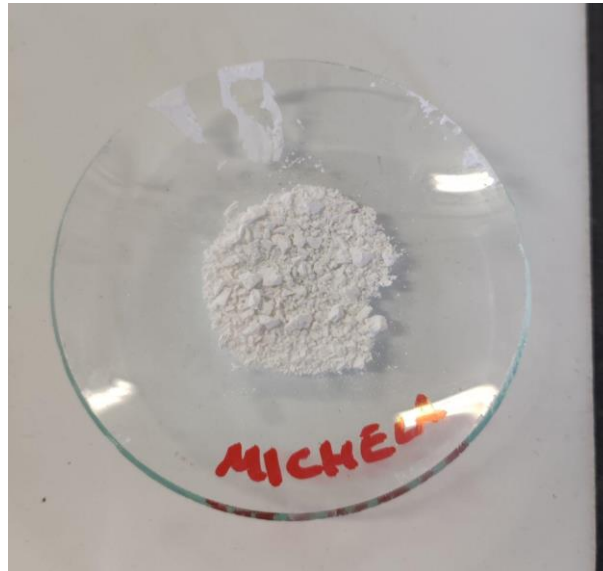
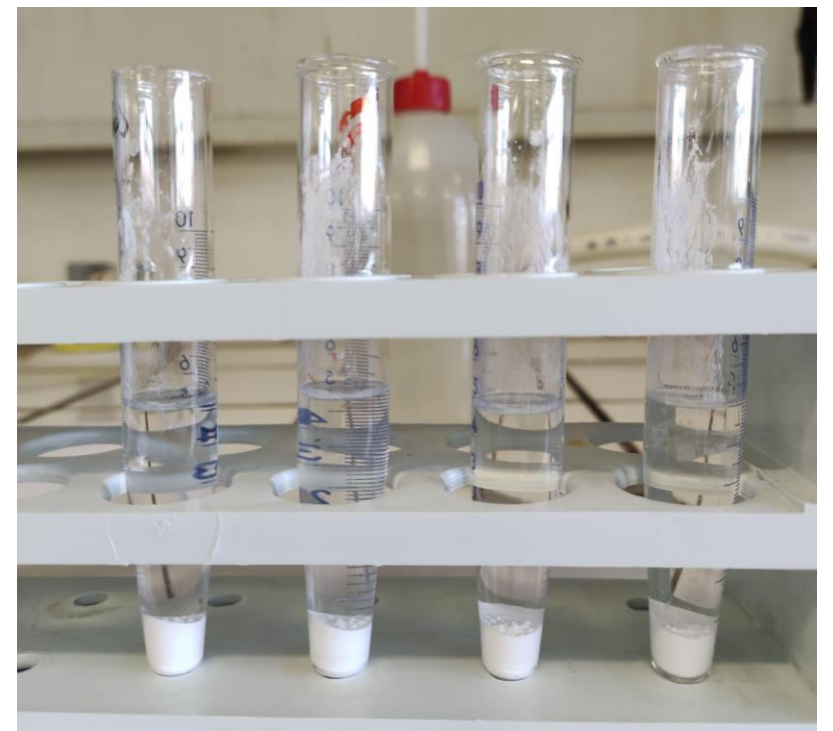
Caratterizzazione UV-Vis







CENTRIFUGAZIONE



ESSICCAZIONE



Caratterizzazione (fonte bibliografica)

- Spettro di assorbimento della nanopolvere di ZnO in acqua (provare a sonicare per solubilizzare)

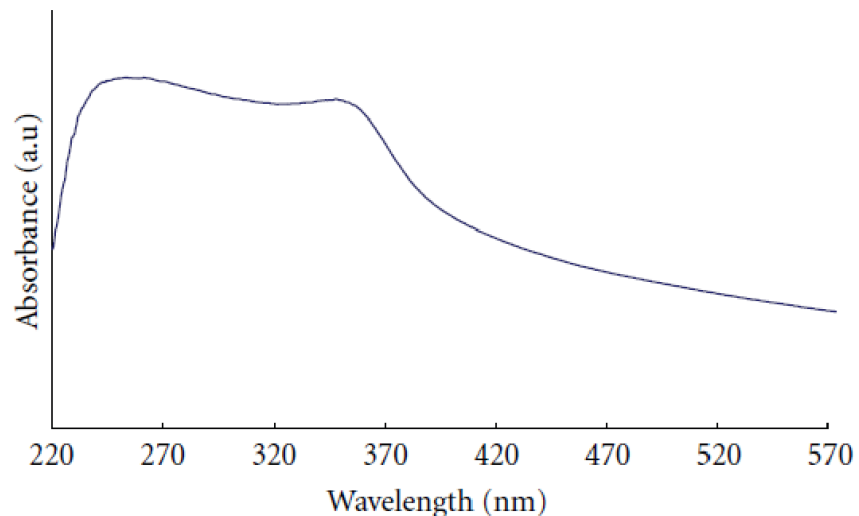


FIGURE 5: UV-vis absorption spectrum of ZnO nanoparticles.

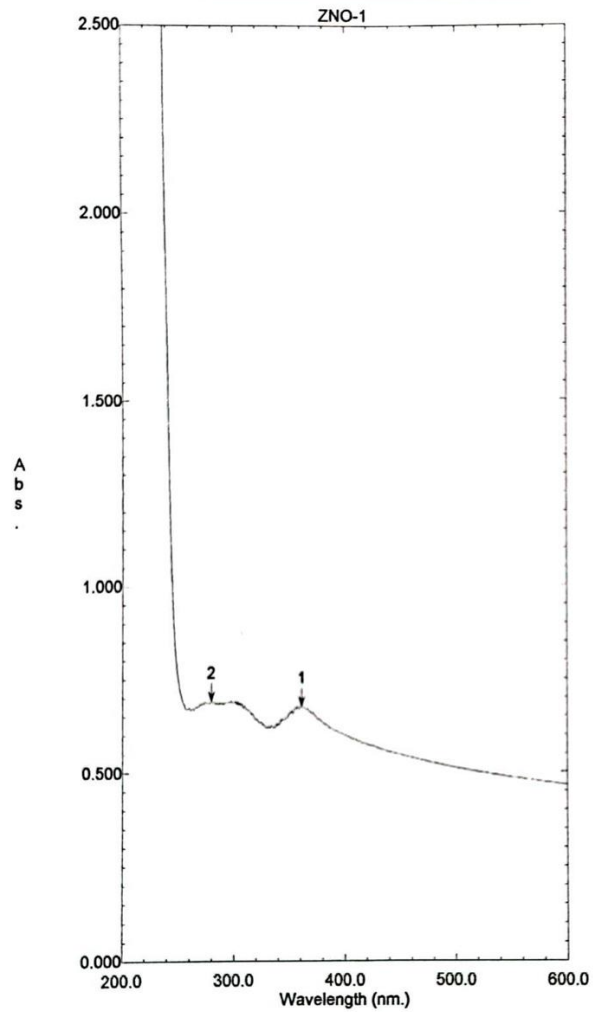
Lo spettro mostra un forte assorbimento a circa 355 nm ed un assorbimento a circa 258 nm dovuto alle nanoparticelle di ZnO.

Viene riportato Biochemistry and Biophysics Reports 17 (2019) 71-80

che al diminuire della dimensione delle particelle, il picco di assorbimento si sposta a minori lunghezze d'onda cioè si ha un blue shift.

15/02/2022

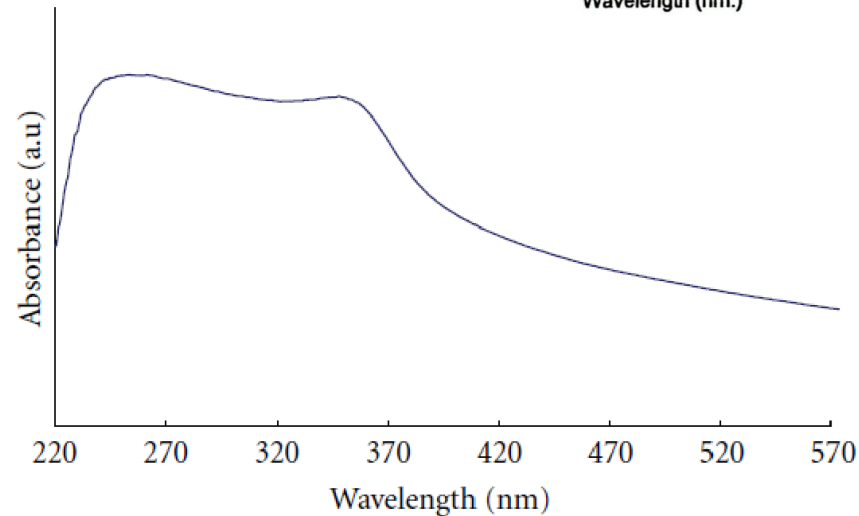
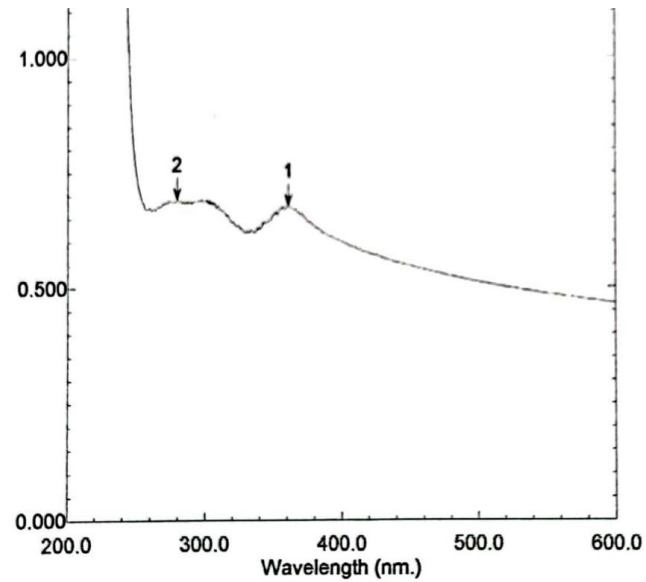
CARATTERIZZAZIONE UV-VIS



File Name: ZNO-1

Created: 11.26 17/03/22
Data: Original

Measuring Mode: Abs.
Scan Speed: Fast
Slit Width: 1.0
Sampling Interval: 0.5



Biochemistry and Biophysics
Reports 17 (2019) 71-80:
forte assorbimento a circa
355 nm ed un assorbimento
a circa 258 nm

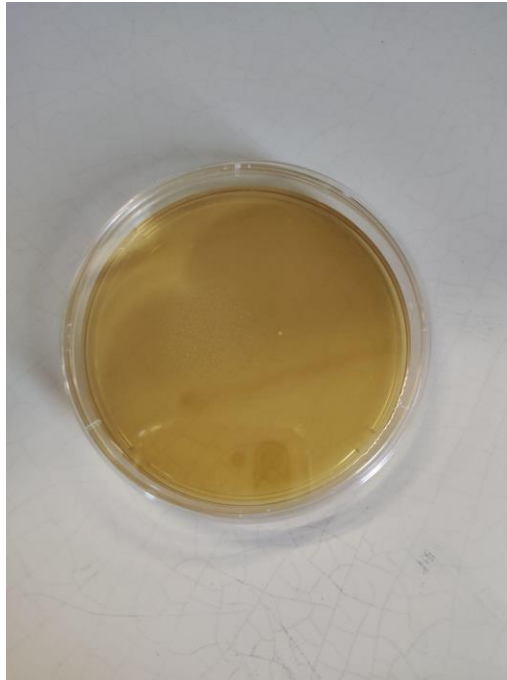
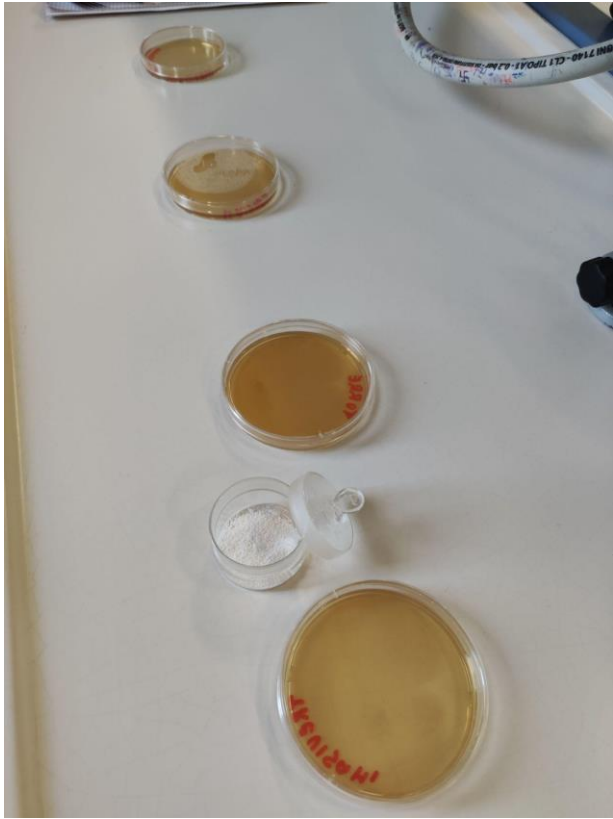
FIGURE 5: UV-vis absorption spectrum of ZnO nanoparticles.

Saggio biologico in vitro di nanoparticelle di ZnO



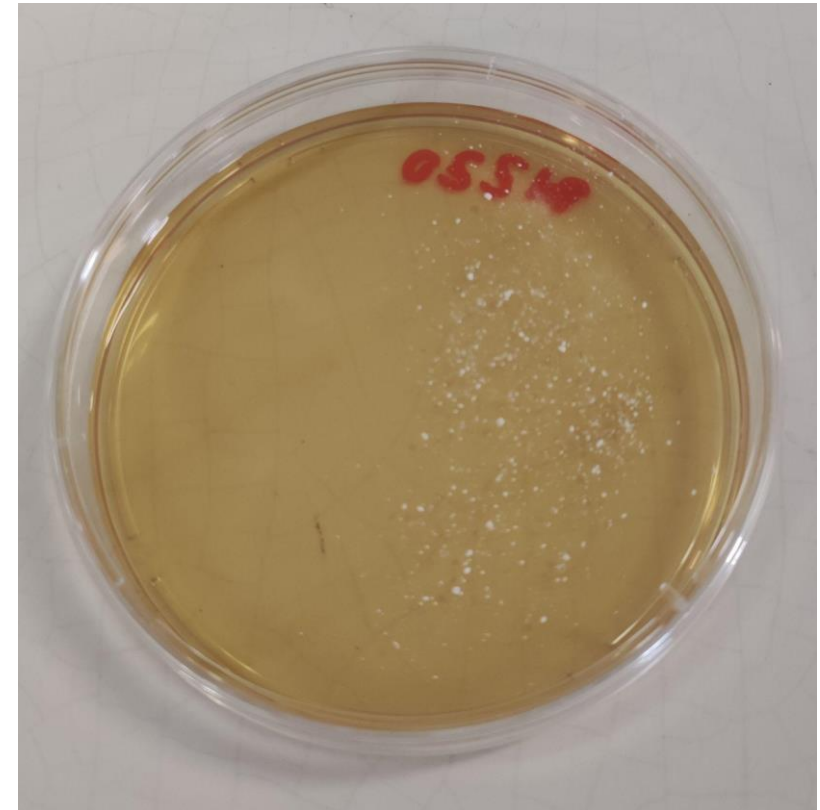
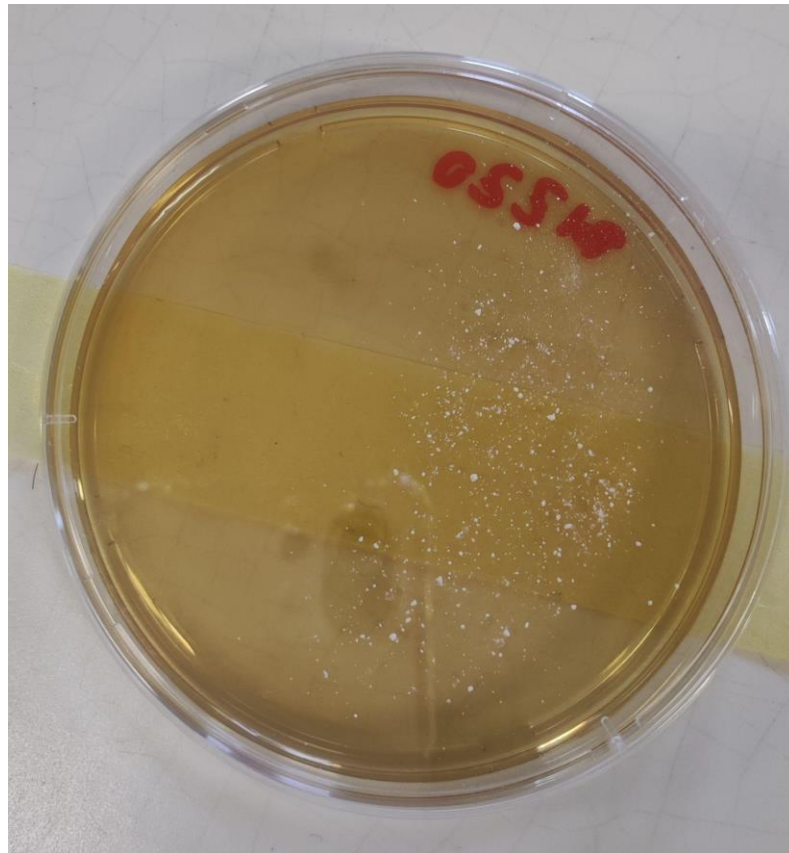
ZnO ?

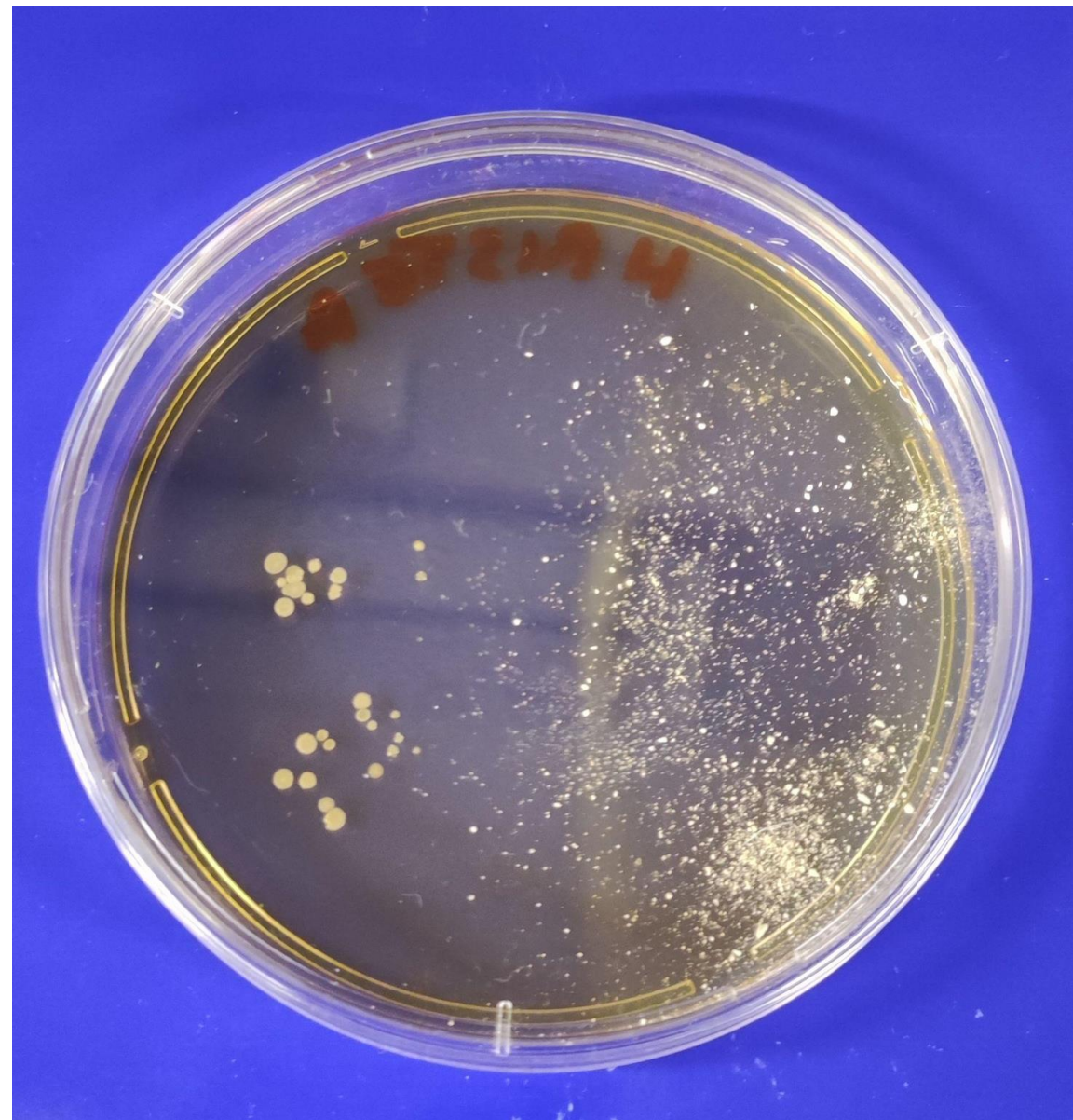
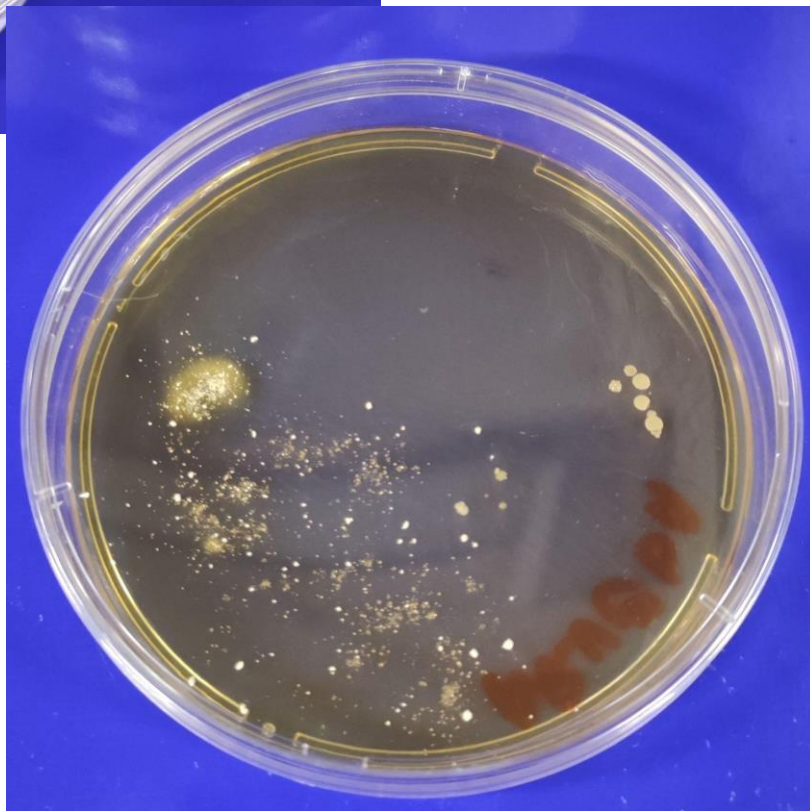
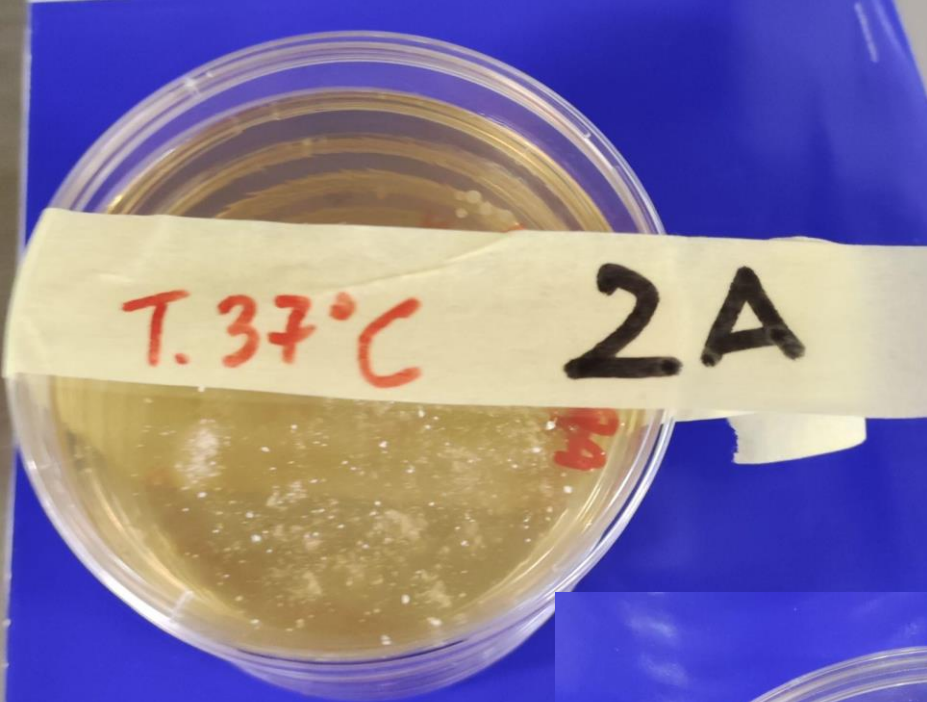
PREPARAZIONE DELLE PIASTRE E SEMINA



DISTRIBUZIONE DELLE NANOPARTICELLE

ZnO





Are di incertezza

Le inusuali proprietà delle nanoparticelle potrebbero portare ad effetti inattesi:

- interazione con le strutture biologiche e del sistema immunitario con effetti tossici
- alcune nanoparticelle potrebbero non essere biodegradabili ed accumularsi nell'organismo causando danni
- la persistenza nell'organismo e nell'ambiente non è ben conosciuta
- **manca una regolamentazione specifica dei farmaci che usano nanotecnologie: l'autorizzazione alla immissione in commercio viene concessa in base alla normativa vigente che si occupa di farmaci «classici». In considerazione dei particolari meccanismi di azione e della potenziale tossicità, è auspicabile un'adeguata valutazione e vigilanza di qualità, efficacia e sicurezza, tramite standard e richieste aggiuntive e specifiche.**

CONCLUSIONI

- Le nanotecnologie applicate alla medicina non si limitano all'elenco riportato: le sperimentazioni in corso sono molte e vedono progetti interessanti.
- La complessità dell'organismo umano e delle malattie che lo colpiscono sono una sfida continua per chi studia e sviluppa nuovi farmaci.
- E' praticamente impossibile trovare un farmaco utile, sicuro, che colpisce solo il bersaglio prefissato, con una durata d'azione giusta, senza effetti collaterali e con un profilo farmacocinetico perfetto.
- L'utilizzo della nanotecnologia in medicina offre la possibilità di portare ad un livello più alto le nostre capacità di combattere le malattie ed è un fronte in continua evoluzione.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America; Organelle-specific targeting of polymersomes into the cell nucleus. February 11, 2020 vol. 117 n. 6
- 2) Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine; Non viral polymeric nanoparticles for gene Therapy in pediatric CNS malignancies; volume 23, January 2020, pag. 102-115
- 3) Rev. Advanced Material Science; A review on role of nanostructures in drug delivery system; vol 36 (2014) pag. 112-117
- 4) International Reserch Journal of Nanoscience and Nanotechnology; Application of Nanomaterials in Medicine: Drug delivery, Diagnostics and Therapeutics; vol 2 (1) June, 2020 pag 017-043
- 5) International Scholarly Research Network, ISRN Nanotechnology; volume 2012 Article ID 372505 Synthesis, Characterization and Spectroscopic Properties of ZnO Nanoparticles
- 6) Biochemistry and Biophysics Reports; Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles by using polyol chemistry for their antimicrobial and antibiofilm activity; vol. 17 (2019) pag. 71-80
- 7) La chimica e l'Industria dicembre 2006, n. 10 pag. 78-85
- 8) euon.echa.europa.eu/it/nanomedicines-on-the-eu-market