

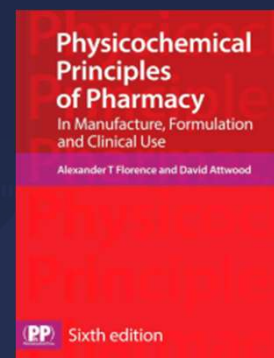


UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TRIESTE

ELEMENTI DI NANOMEDICINA

Ass. Prof. Massimiliano Pio di Cagno

04/11/2025



Cap. 14

Copyright © Massimiliano Pio di Cagno - Unit's

OBBIETTIVI FORMATIVI DELLA LEZIONE

Al termine della lezione, lo studente deve essere in grado di:

- Dare una definizione di nanomedicina e di teragnostica;
- Elencare i principali nano-veicoli («nanocarrier») sviluppati in ambito farmaceutico (e.g., liposomi, dendridi, nanocristalli, nanocolloidi e nanoemulsioni) e descriverne la struttura;
- Ragionare sul ruolo della dimensione nei nano-veicoli nel contesto dell'uso della nanomedicina nell'uomo;
- Definire cosa si intende per effetto EPR («enhanced permeability and retention»);
- Elencare e descrivere i metodi caratterizzativi nei nano-sistemi;
- Ragionare sul concetto di emivita plasmatica nel contesto dei nano-sistemi e suggerire approcci formulativi per estenderla;

NANOMEDICINA: «THE MAGIC BULLET»



1854 - 1915

http://en.wikipedia.org/wiki/Paul_Ehrlich

Il concetto di "proiettile magico" è stato introdotto per la prima volta dal medico e scienziato Paul Ehrlich all'inizio del XX secolo



Egli pensò che se fosse stato possibile creare un composto che colpisse selettivamente un organismo patogeno, allora, insieme all'agente selettivo, sarebbe stata possibile fornire anche una tossina per quell'organismo. Da qui, una "soluzione magica".

3

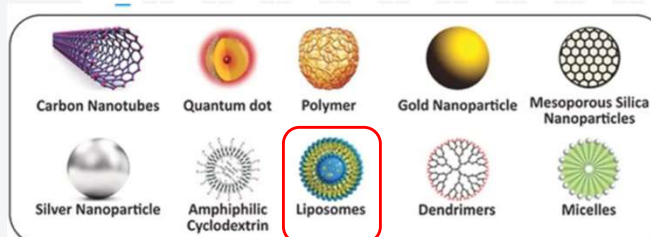
NANOMEDICINA: ALCUNI PRDOTTI COMMERCIALI

Ambisome®	Liposomal amphotericin B	Fungal infections	Astellas Pharma/Gilead Sciences
Doxil®, Caelyx®	PEGylated liposomal doxorubicin	Kaposi's sarcoma; metastatic breast and ovarian cancers	Janssen Pharmaceuticals
Doxisome®, Lipo-Dox®	PEGylated liposomal doxorubicin	Kaposi's sarcoma; metastatic breast and ovarian cancers	Taiwan Lipo-some Company, Ltd
DaunoXome®	Liposomal daunorubicin	Kaposi's sarcoma	Galen Ltd
DepoCyt®	Liposomal cytarabine	Lymphomatous meningitis	Sigma-Tau Pharmaceuticals
DepoDur®	Liposomal morphine	Pain treatment	Pacira Pharmaceuticals
Myocet®	Liposomal doxorubicin	Metastatic breast cancer	Cephalon Inc./Sopherion
Visudyne®	Liposomal verteporfin	AMD	Novartis AG/QLT Inc.
Genexol-PM®	PEG-poly(D,L-lactide) with paclitaxel	Breast cancer and NSCLC	Samyang Pharmaceuticals
Abraxane®	Albumin-bound paclitaxel	Metastatic breast cancer	Celgene Corp.

4

TIPI DI NANO-VEICOLI

I nano-veicoli («nanocarrier») sono delle nanoparticelle particolari, dedite al trasporto di agenti terapeutici o altre sostanze in siti specifici. I nano-veicoli utilizzati esclusivamente come moduli di trasporto di farmaci si possono definire anche nano-vettori.



<https://microfluidics-innovation-center.com/ongoing-research/multifunctional-nanocarriers-nonlinear-microscopy-micro4nano/>

5

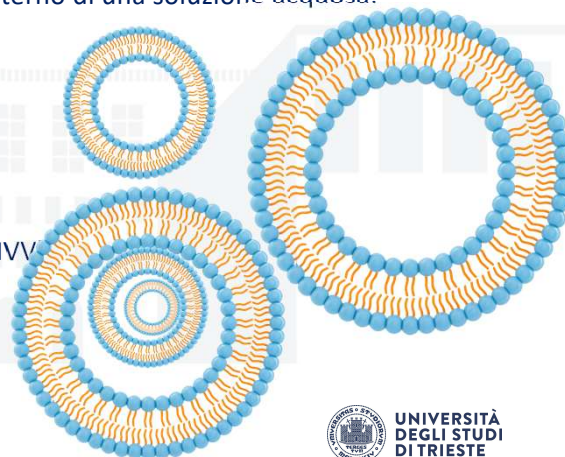
LIPOSOMI

I liposomi sono piccole vescicole sferiche costituite da doppi strati di fosfolipidi che incapsulano e trasportano principi attivi, come farmaci o cosmetici, all'interno di una soluzione acquosa.

1) Vescicole uni lamellari (a singolo strato)

- Uni-lamellari piccole («*small unilamellar vesicles*» SUV)
- Uni-lamellari grandi («*large unilamellar vesicles*» LUV)

2) vescicole multi-vescicolari («multivesicular vesicle» MVV)

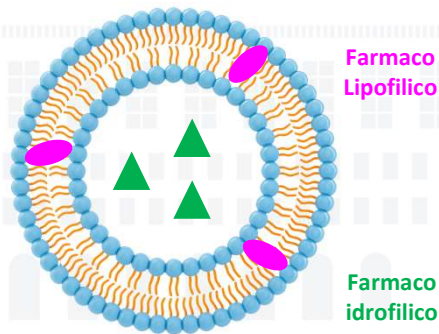


6

<https://nolip.it/it/ricerca-e-produzione/>

LIPOSOMI

I farmaci avranno diverso posizionamento all'interno del liposoma a seconda della loro natura IDROFILICA/IDROFOBICA



Farmaco
Lipofilo

Farmaco
idrofilico

7 |

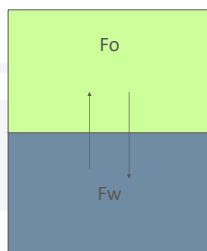
<https://nrdp.it/it/ricerca-e-produzione/>

COEFFICIENTE DI PARTIZIONE OLIO/ACQUA



Ottanolo
Acqua

F_o : Farmaco in ottanolo
 F_w : Farmaco in acqua
 C_o : Concentrazione del farmaco in olio
 C_w : Concentrazione del farmaco in acqua



$\log P \geq 1$ = Farmaco lipofilo
 $\log P \leq -1$ = Farmaco idrofilico
 $-1 < \log P < 1$ = Non definito

$$P = \frac{C_o}{C_w}$$

$$\log P = \log \frac{C_o}{C_w}$$

Distribuzione dei farmaci in 2 fasi (acqua/olio) (ora l'1-ottanolo è spesso utilizzato come fase oleosa)

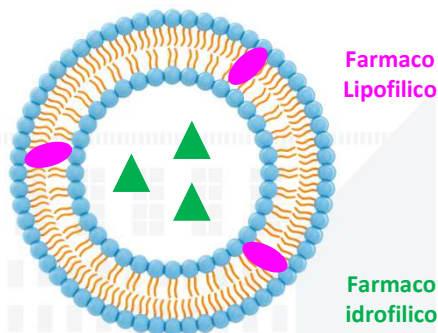
8 |

Copyright © Massimiliano Pio di Cagno - Unit's

CARICAMENTO E COEFFICIENTE DI PARTIZIONE

Regola approssimativa

COEFFICIENTE DI PARTIZIONE	CARICAMENTO «LOADING»
≥ 1	DOPPIO STRATO FOSFOLIPIDICO
≤ -1	«CORE» ACQUOSO
≤ -1 OG ≥ 1	ENTRAMBI



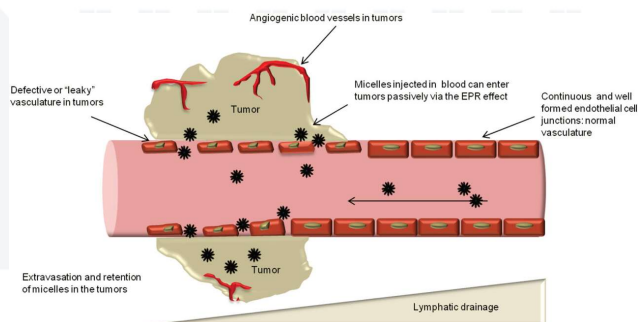
9

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> (solubilità in acqua senza controllo del pH)
** Tabella 4.18 nel Florence & Attwood

Copyright © Massimiliano Pio di Cagno - UniTs

DISTRIBUZIONE DEI LIPOSOMI-EFFETTO EPR

L'effetto di permeabilità e ritenzione migliorata («enhanced permeability and retention EPR») si riferisce al fenomeno di accumulo tipicamente di liposomi, nanoparticelle e farmaci macromolecolari) in tessuti tumorali molto più di quanto non facciano nei tessuti normali

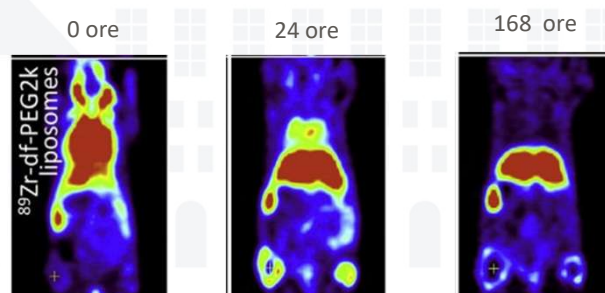


10

Copyright © Massimiliano Pio di Cagno - UniTs

EFFETTO EPR: LIPOSOMI RADIOMARCATI

La radiomarcatura è una procedura standard per valutare l'accumulo di nanoparticelle all'interno di tumori solidi. In questo caso liposomi PEG-ilati sono stati marcati con Zr^{89} un isotopo radioattivo, dello zirconio utilizzato nella tomografia a emissione di positroni (PET).



11

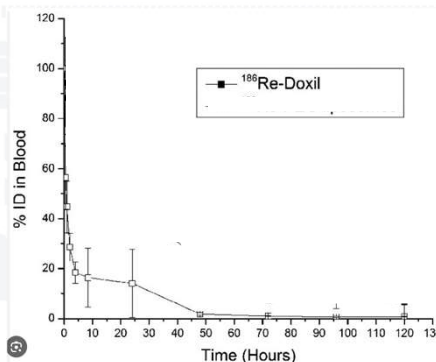
Man, F., et al. Advanced Drug Delivery Reviews Volume 143(2019)134-160. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2019.05.012>

Copyright © Massimiliano Pio di Cagno - UniT's



CLEARANCE LIPOSOMIALE E PEG-ILAZIONE

La clearance (CL) di agenti nanoparticellari liposomiali (NP) non-PEGilati e PEGilati (ad esempio, liposomi) attraverso il sistema dei fagociti mononucleari (MPS) nel sangue, nel fegato e nella milza, ed avviene molto rapidamente.



12

Man, F., et al. Advanced Drug Delivery Reviews Volume 143(2019)134-160. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2019.05.012>

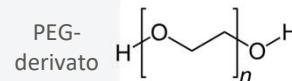
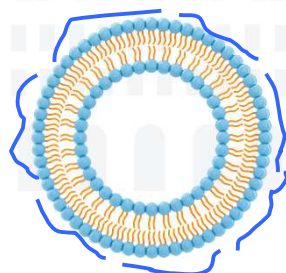
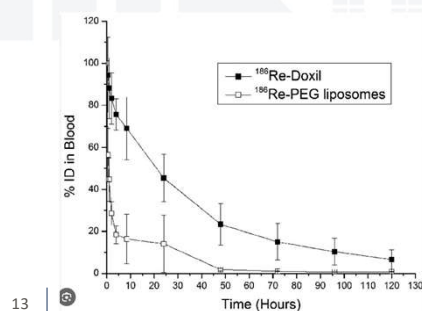
Copyright © Massimiliano Pio di Cagno - UniT's



CLEARANCE LIPOSOMIALE E PEG-ILAZIONE

La PEG-ilazione, significa ricoprire i liposomi con polimeri idrofili, nella fattispecie, derivati del glicole polietilenico (PEG).

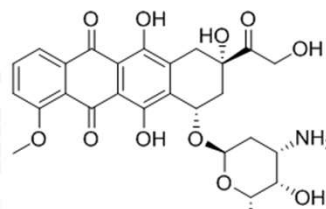
Questo processo, protegge i liposomi dal riconoscimento da parte del sistema fagocitario mononucleare (MPS), incrementandone il tempo di circolazione nel sangue.



DOXIL[®] (MYOCET[®])

La doxorubicina è un principio attivo utilizzato per trattare vari tipi di tumori, principalmente solidi.

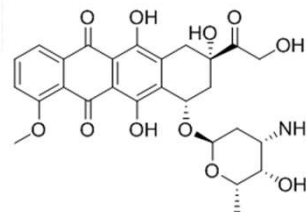
- Cancro al seno;
- Osteosarcoma;
- Cancro del polmone a piccole cellule;
- Cancro della vescica;
- Linfoma di Hodgkin e non Hodgkin;
- Leucemia linfatica acuta;
- Leucemia mieloblastica acuta;
- Mieloma multiplo;
- Carcinoma endometriale avanzato;
- Tumori della tiroide;
- Alcuni tipi di tumori della vescica metastatici e non;
- Tumore di Wilms (un tipo di tumore pediatrico);
- Neuroblastoma avanzato (un tumore pediatrico che interessa il tessuto nervoso).



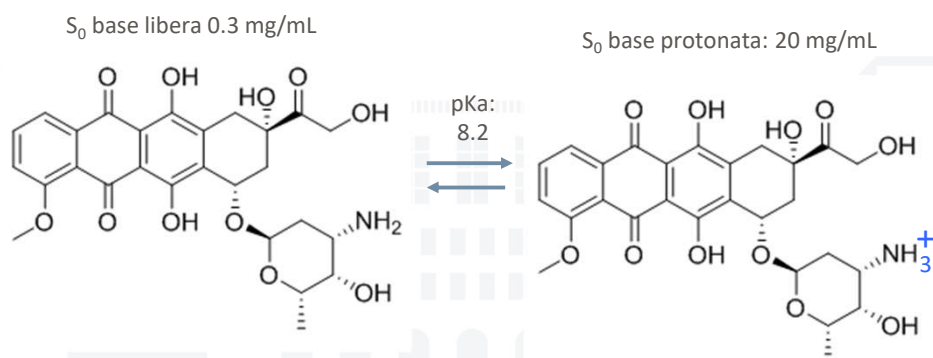
LEZIONE B6.1-QUESITO 1

INDICARE QUALE DELLE SEGUENTI AFFERMAZIONI È QUELLA CORRETTA:

- a) La doxorubicina è un farmaco poco solubile in acqua ma potenzialmente molto permeabile
- b) La doxorubicina è un farmaco molto solubile in acqua ma molto lipofilo
- c) La solubilità della doxorubicina è indipendente dal pH
- d) È impossibile fare una valutazione qualitativa della solubilità e delle proprietà di partizione dalla sola struttura chimica



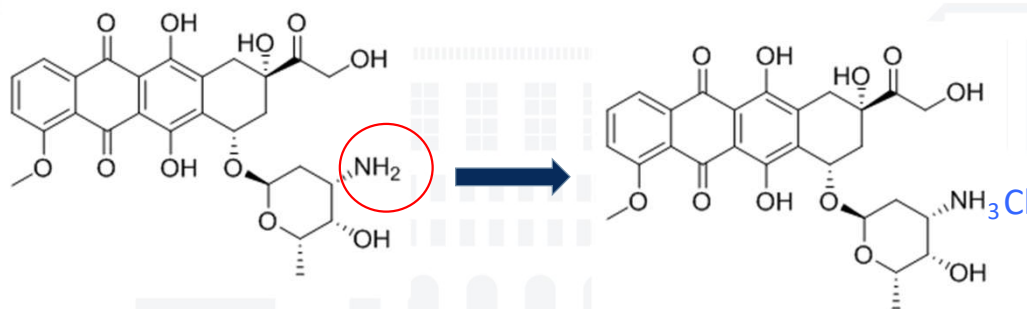
15

DOXIL[®] (MYOCET[®])

16

DOXIL[®] (MYOCET[®])

La doxorubicina HCl ha una buona solubilità in acqua (50 mg/ml)



17

Copyright © Massimiliano Pio di Cagno - UniTs

DOXIL[®] (MYOCET[®]): PERCHÉ UNA FORMULAZIONE LIPOSOMIALE?

La tossicità della doxorubicina è multifattoriale e può manifestarsi in vari modi, con la tossicità cardiaca e la mielosoppressione (depressione del midollo osseo) come le più gravi. Altri effetti includono problemi gastrointestinali (nausea, vomito, stomatite), perdita di capelli (alopecia), tossicità cutanea in caso di stravasamento e, in casi specifici, effetti sul sistema riproduttivo.

I liposomi in questo caso sono stati usati per ridurre gli effetti cardiotossici e, potenzialmente, aumentare la circolazione

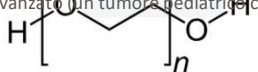
18

Copyright © Massimiliano Pio di Cagno - UniTs

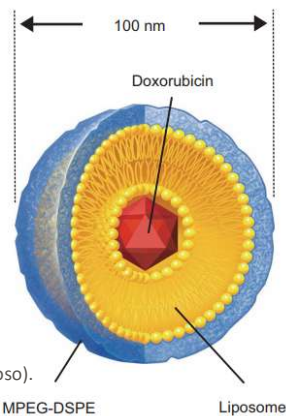
DOXIL[®] (MYOCET[®])

Doxil è un farmaco chemioterapico a base di doxorubicina liposomiale, un agente antitumorale utilizzato per trattare vari tipi di tumori solidi.

Cancro al seno;
Osteosarcoma;
Cancro del polmone a piccole cellule;
Cancro della vescica;
Linfoma di Hodgkin e non Hodgkin;
Leucemia linfatica acuta;
Leucemia mieloblastica acuta;
Mieloma multiplo;
Carcinoma endometriale avanzato;
Tumori della tiroide;
Alcuni tipi di tumori della vescica metastatici e non;
Tumore di Wilms (un tipo di tumore pediatrico);
Neuroblastoma avanzato (un tumore pediatrico che interessa il tessuto nervoso).



Derivato del Glicole
polietilenico (PEG)



19

Copyright © Massimiliano Pio di Cagno - UniT's <https://www.abnarmcology/2000.com/Doxorubicin/Doxil/d01.htm>

DOXIL[®] (MYOCET[®]): RISULTATI CLINICI

	MYOCET	CONVENTIONAL DOXORUBICIN
PATIENTS (METASTATIC BREAST CANCER)	108	116
OBJECTIVE RESPONSE RATE (%)	26	26
PATIENTS WITH PROGRESSION (%)	70	66
PATIENT SURVIVAL (%)	76	68
OCCURRENCE OF CARDIOTOXICITY (%)	13	29
CASES OF CHF*	2	9

"...Myocet produces less cardio toxicity than doxorubicin while providing comparable antitumor activity."

20

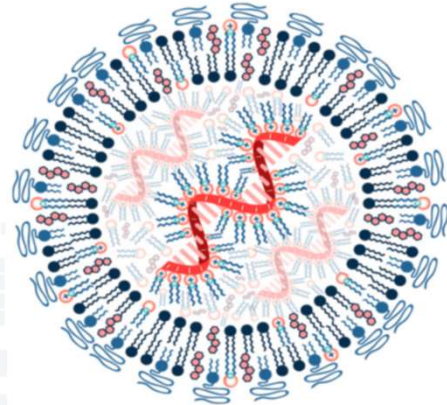
Harris, L. et al., Cancer 2002, 94:25-36

Copyright © Massimiliano Pio di Cagno - UniT's

NANOMEDICINA: IL PRIMO VACCINO COVID A mRNA

Table 1. Current human trials for SARS-CoV-2 using mRNA lipid nanoparticles. All mRNA vaccines in SARS-CoV-2 clinical trials use a lipid nanoparticle for delivery. The identity and composition of each has not been publicly disclosed, so their probable class (shown below) is based on the available literature and patent citations.

Company	mRNA Type	Immunogen	mRNA Dose (µg)	Confirmed or Probable LNP Class	Publications
Moderna	nucleoside modified mRNA	membrane bound prefusion stabilized spike	100	Lipid H [42] confirmed in [41]	[43–46]
BioNTech Pfizer	nucleoside modified mRNA	membrane bound prefusion stabilized spike	30	Acuitas ALC-0315 [47] confirmed in [48]	[48–51]



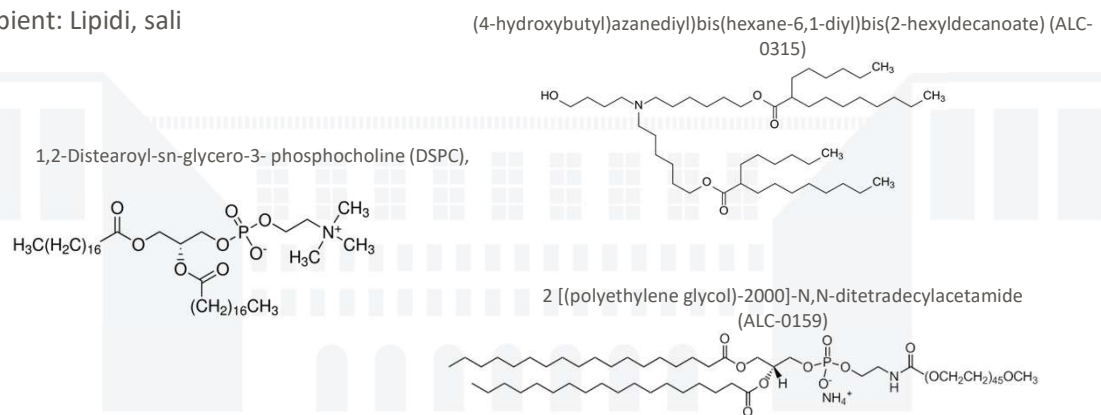
PEG-lipid Charged ionizable lipid
 Cholesterol Neutral ionizable lipid
 DSPC

21

COMIRNATY®: VACCINI PFIZER-BIONTECH SARS-COV-2

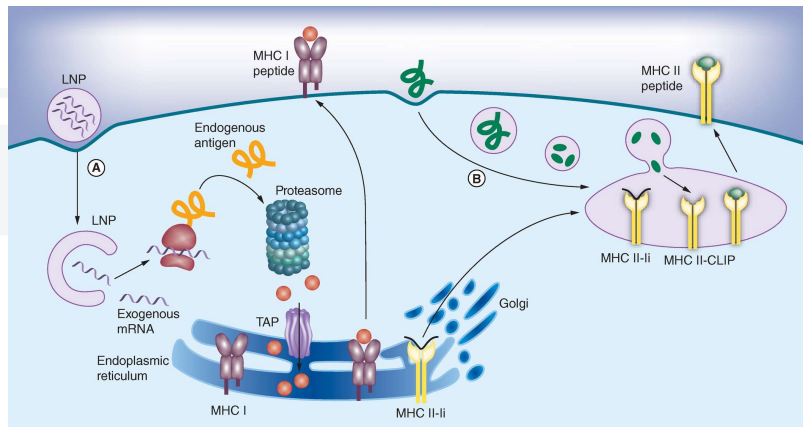
API: Mrna
Eccipient: Lipidi, sali

https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/comirnaty-epar-product-information_en.pdf



22

COMIRNATY®: VACCINI PFIZER-BIONTECH SARS-COV-2



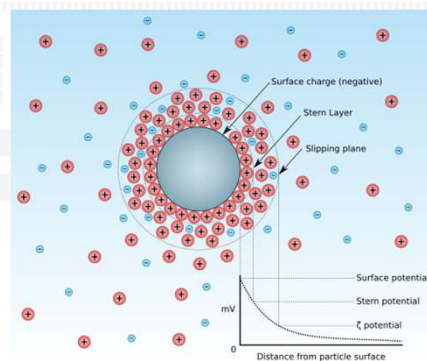
23

Reichmuth a.M., et al. Ther. Deliv. 7:319-334 (2016) doi: <https://doi.org/10.4155/tde.2016.0006>

Copyright © Massimiliano Pio di Cagno - UniTs

POTENZIALE Z

Il potenziale zeta, o potenziale elettrocinetico (indicato come potenziale ζ facendo ricorso alla lettera zeta dell'alfabeto greco) è il potenziale generato in seguito alla formazione di un doppio strato elettrico. Esso è responsabile dei fenomeni elettrocinetici e della stabilità dei colloidi.



24

https://it.wikipedia.org/wiki/Potenziale_zeta

Copyright © Massimiliano Pio di Cagno - UniTs

POTENZIALE Z: IMPORTANZA

Un valore elevato di potenziale ζ conferisce maggiore stabilità ai sistemi colloidali, in quanto si originano repulsioni elettrostatiche che impediscono l'aggregazione delle particelle disperse.

Quando il potenziale è basso, le forze attrattive prevalgono sulle repulsioni e quindi risulta più semplice il verificarsi di processi quali la coagulazione e la flocculazione.

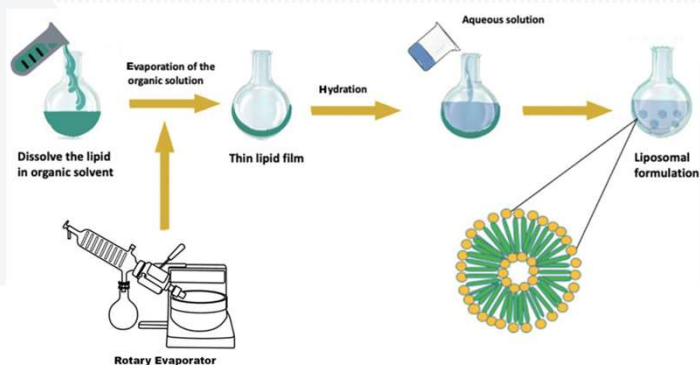
POTENZIALE Z [mV]	STABILITÀ DEL COLLOIDE
DA 0 A ± 5	RAPIDA COAGULAZIONE O FLOCCULAZIONE
DA ± 10 A ± 30	INSTABILITÀ INCIPIENTE
DA ± 30 A ± 40	MODERATA STABILITÀ
DA ± 40 A ± 60	BUONA STABILITÀ
$> +61$ E < -61	ECCELLENTE STABILITÀ

25

Copyright © Massimiliano Pio di Cagno - UniTs

PRODUZIONE LIPOSOMIALE: «*THIN-LAYER (THIN-FILM) METHOD*»

Il metodo a strato sottile (o film sottile) è una tecnica comune per creare liposomi formando prima un film sottile di lipidi dopo aver evaporato un solvente organico

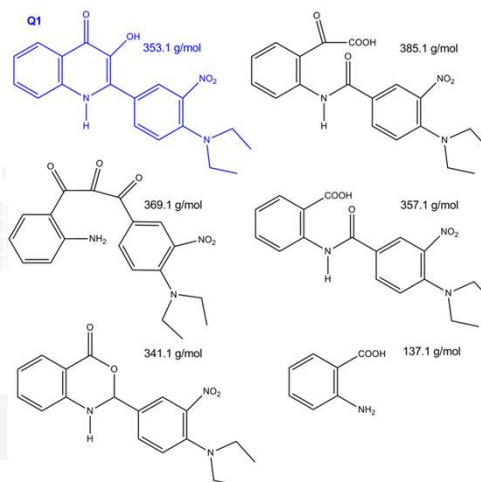


26

Copyright © Massimiliano Pio di Cagno - UniTs

NANOMEDICINA: CASO ATTIVI LIPOFILI

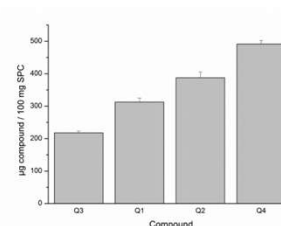
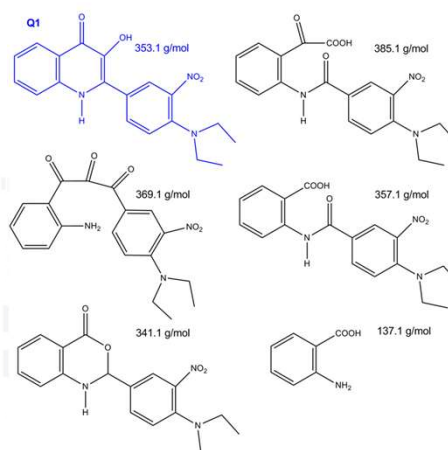
- Quinolinoni derivati
- Potenziali sostanze citotossiche
- Insolubili in acqua
- Idea: liposomi target tumori solidi



27

NANOMEDICINA: CASO ATTIVI LIPOFILI

- Quinolinoni derivati
- Potenziali sostanze citotossiche
- Insolubili in acqua
- Idea: liposomi target tumori solidi



28

NANOMEDICINA: CASO ATTIVI LIPOFILI

Cytotoxicity expressed by the compounds in phosphate buffer and in liposomal formulations detected via MTT test on different human tumour cell lines.

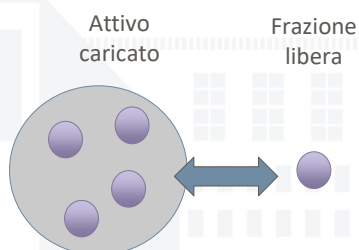
Cell lines	Control		Q1		Q2		Q3		Q4	
	PBS IC50 (mM)	SPC IC50 (μM)	PBS IC50 (μM)	Liposome IC50 (μM)	PBS IC50 (μM)	Liposome IC50 (μM)	PBS IC50 (μM)	Liposome IC50 (μM)	PBS IC50 (μM)	Liposome IC50 (μM)
A549	> 140	200	9.19	0.25	9.40	0.83	9.78	0.20	6.11	0.79
CEM	> 140	200	4.28	0.09	4.17	0.10	3.91	0.08	4.26	0.10
CEM _{DNR}	> 140	200	13.31	0.21	10.28	0.71	18.61	0.17	4.09	0.77
HCT116p53 _{MUT}	> 140	200	11.96	0.14	36.24	0.19	30.09	0.13	6.77	0.23
HCT116p53 _{WT}	> 140	200	16.94	0.09	15.58	0.15	14.20	0.08	8.25	0.20
K562	> 140	200	10.36	0.13	6.08	0.32	5.38	0.10	5.19	0.34
K562 _{TX}	> 140	200	7.75	0.14	6.64	0.26	4.34	0.12	6.74	0.26

A549: Lung adenocarcinoma cells, CEM: Human T-lymphoblastic leukemia cells, CEM DNR: Human T-lymphoblastic leukemia subline, Daunorubicin resistant, K562: Chronic myelogenous leukemia Cells, K562-Tax: Chronic myelogenous leukemia Cells, Taxol resistant, HCT116P53: Colon cancer cell lines, PBS: phosphate buffer saline, SPC: Soy phosphatidylcholine

29

CARICAMENTO VS FRAZIONE LIBERA

- Anche se un attivo è caricato in modo consistente all'interno di sistemi nanoparticellari, questo non significa che l'attività biologica sia migliorata.

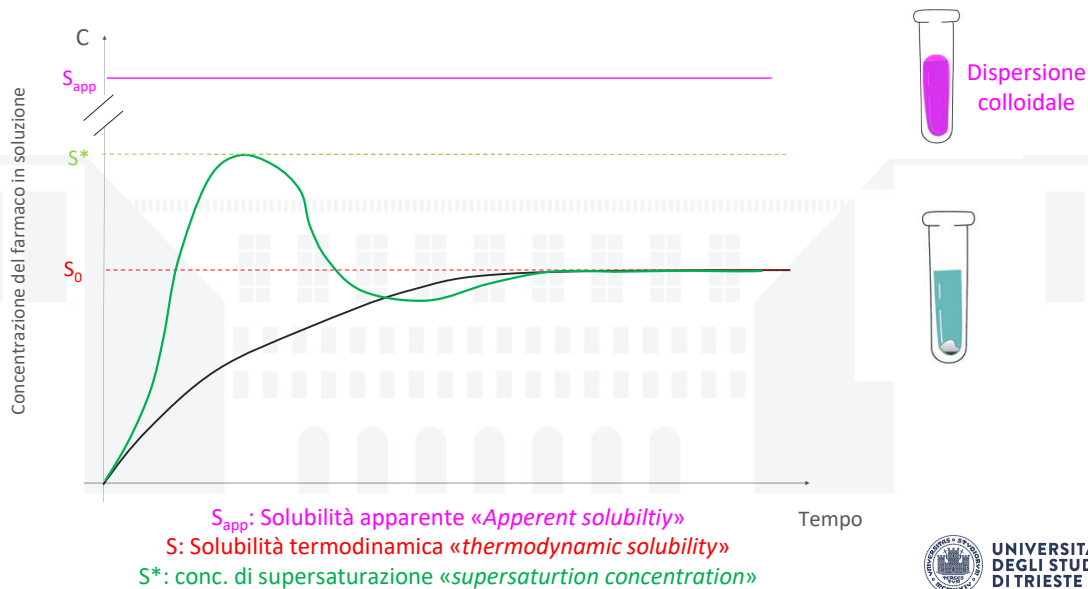


La cinetica di rilascio del farmaco rappresenta la velocità con cui molecole dell'attivo vengono rilasciate dai nano vettori verso l'ambiente circostante esterno.

Se questa è sfavorevole, l'effetto biologico non è migliorato

30

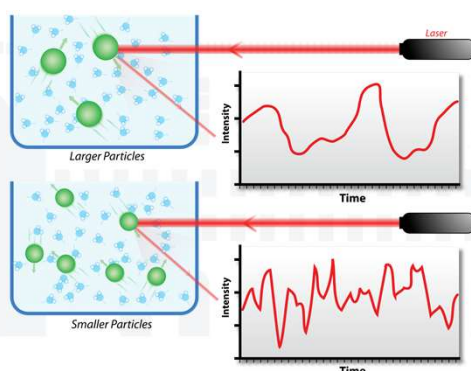
PROFILO DI DISSOLUZIONE: RAGGIUNGIMENTO DELLA SATURAZIONE



31

ANALISI DIMENSIONALE DISPERSIONI LIPOSOMIALI

«Dynamic light scattering» (DLS) è una tecnica in fisica che può essere utilizzata per determinare il profilo di distribuzione dimensionale di piccole particelle in sospensione o polimeri in soluzione.



L'intensità dello scattering e la frequenza sono proporzionali al coefficiente di diffusione delle particelle

Nanoparticelle per iniezione devono avere un diametro medio inferiore ai 100 nm

32

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TRIESTE

DIFFUSIONE PASSIVA: EQUAZIONE DI STOKES-EINSTEIN

$$D = \frac{k_b T}{6\pi\eta r}$$

D: Costante di diffusione (cm²/sec)
 K_b: Costante di Boltzmanns (cm²·g/s²·K)
 η: Viscosità (g/cm·s)
 r: Raggio idrodinamico (cm)



33

X



Copyright © Massimiliano Pio di Cagno - UniTs

LEZIONE B6.1-QUESITO 1

INDICARE QUALE DELLE SEGUENTI AFFERMAZIONI È QUELLA CORRETTA:

- a) I liposomi possono essere usati indipendentemente dal loro diametro medio
- b) I liposomi possono essere usati solo al di sotto di 100 nm
- c) I liposomi non possono essere iniettati endovena
- d) I liposomi non sono usati dal punto di vista farmaceutico

QUIZ

QUIZ

34



Copyright © Massimiliano Pio di Cagno - UniTs

«TAKE HOME MESSAGES»

- _____
- _____
- _____
- _____
- _____