Riassunti di Nanomedicina

master COPY

AA. 2017-2018

Professoressa V. Raffa

A cura di:

E. Caciolli
P. Colucci
Giommi

master COPY

master COPY

DISCLAIMER: Questi appunti sono stati scritti a partire dalle sbobinature dell'anno 2017-2018 del corso di Nanomedicina. Si consiglia di integrarli con il materiale didattico fornito (è una materia in continua evoluzione, ci sta si scoprano cose nuove/il programma venga ritoccato).

Nanomedicina 1

1 Presentazione del corso

La nanoscienza non è fisica, chimica, ingegneria o biologia. È l'insieme di queste.

Nanomateriale = materiale che abbia almeno una delle tre dimensioni sotto i 100 nm.
Nanoparticelle -> tutte e 3
Nanotubo -> solo 2
Film -> solo 1.

master COPY

Noi ci occuperemo di nanoparticelle o comunque nanomateriali che hanno tutte e tre le dimensioni sotto i 100 nm.
NB. Questa è una condizione *necessaria ma non sufficiente*: l'altra è che il nanomateriale si "comporti come un unico", perché questo gli consente di esibire delle proprietà nuove che non avrebbe nella forma bulk (o per dire, a livello macroscopico).

Nanotecnologie = sono quelle tecnologie che abilitano all'utilizzo dei nanomateriali, cioè ci consentono di visualizzarli e manipolarli.

Nanomedicina = è l'applicazione medica delle nanotecnologie.

NB. Quando parliamo di *nano* intendiamo 10^{-9}. Questo è il motivo per cui la prima definizione che abbiamo dato di nanomateriale non è sufficiente: se considerassimo solo i materiali con dimensioni inferiori ai 100 nm, DNA, virus e tanta altra roba rimarrebbero fuori da tale definizione e questo non va bene.
Alcuni hanno tentato di differenziare queste cose parlando di materiali ingegnerizzati, ma nemmeno questo è corretto perché non tutti i nanomateriali sono ingegnerizzati.

Quindi cos'è che caratterizza realmente un nanomateriale? Lo vedremo dopo.

1.2 Storia breve della nanomedicina

Nasce come disciplina teorizzata all'inizio del 2000 ma trova le sue radici negli anni '60.

-Richard Feynman era un fisico, considerato "l'inventore" della nanomedicina perché fu il primo a concettualizzarne le linee guida nel libro *There's plenty of room at the bottom* (anni 60): cioè se prendo un bicchiere d'acqua e lo svuoto non posso dire che questo è completamente vuoto perché sul fondo ci sono tante gocce che non riesco a vedere. Inventò anche il microscopio elettronico.

-Negli anni 70 ad un congresso scientifico cambia la concezione classica di biologia/chimica e si parla di manipolare i singoli atomi anziché far avvenire le reazioni in fase bulk ("in massa") a livello macroscopico.

Un esempio analogo: Feynman ipotizzò che si potesse ingoiare un nanorobot che fosse capace di viaggiare nel corpo umano, cercasse il suo target e che esplicasse la sua funzione come un piccolo chirurgo.

-Film Fantastic Voyage del 1966: film di fantascienza in cui ci sono delle navicelle che viaggiano nel corpo umano.

-Eric Drexler (1992) e Robert Freitas (1999): gli ingegneri iniziano ad interessarsi alla nanomedicina e a fare studi di fattibilità e progettazione. In pratica si chiedono se i nanorobot sono fantascienza o potranno diventare realtà (almeno quando esisteranno le tecnologie appropriate). Sono fisicamente impossibili o c'è solo un limite tecnologico? Sono stati realizzati vari progetti di nanorobot, possibili dal punto di vista teorico ma non dal punto di vista pratico per mancanza di tecnologie.

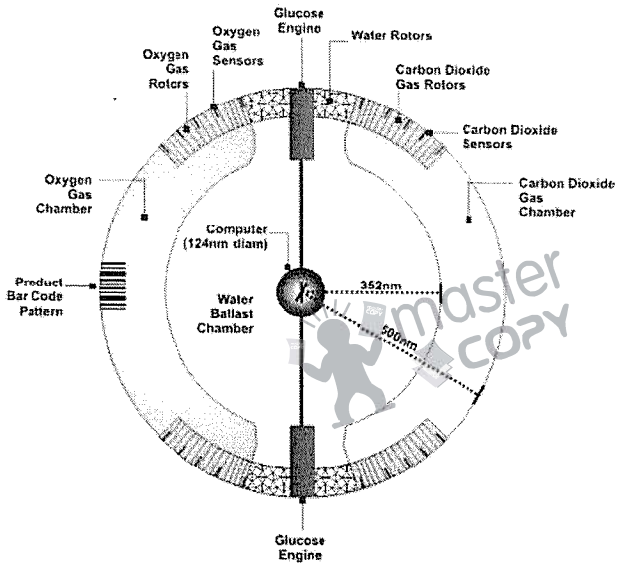
1.3 Il respirocita

Un ***respirocita*** è un globulo rosso artificiale.
Possiede una struttura fatta da atomi di C organizzati in una struttura detta "a diamantoide".

In questo progetto troviamo esattamente il numero di atomi nella loro configurazione spaziale.
Gli ingegneri hanno calcolato che questa struttura ha una resistenza meccanica tale da sopportare una pressione di 100.000 atomi.
Questo è importante perché un globulo rosso deve trasportare O_2 e CO_2 e quindi è fondamentale sapere il suo limite di carico -> sulla base dei loro calcoli questo respirocita ha una capacità di trasporto 236 volte superiore rispetto ad un normale globulo rosso.

Struttura:
Dal momento che stiamo parlando di gas che devono essere scambiati è necessario avere un ***motore***. Tale motore deve essere in grado di caricare/scaricare O_2 e CO_2 (se siamo negli alveoli polmonari o nei tessuti) ed andare con qualcosa di disponibili (nell'esempio vanno a glucosio).
I ***sensori*** sono in grado di leggere la pressione parziale di O2 e CO2 e sono necessari per capire se ci troviamo

negli alveoli o nei tessuti e quindi quale azione deve essere compiuta.
Il ***microprocessore*** deve elaborare queste informazioni proveniente dai sensori e inviare lo stimolo esatto al motore.



The outer shell of the respirocyte would be constructed out of a diamondoid material - this includes any crystal which has a structure similar to diamond, such as sapphire. The shell would most likely have to be built up from individual atoms or small units to ensure a flawless construction. The strength of a shell like this would allow the respirocyte to contain gases at incredibly high pressures, up to 100,000 atmospheres. With this capability, the device could hold 236 times more oxygen and carbon dioxide than a red blood cell.

Functionality
A working respirocyte would need the following components:
Molecular rotors, built from around 100,000 atoms, to pump gases in and out of the pressurized storage chambers, and collect glucose for energy. These would be functionalized with selective binding sites, restricting them from pumping all but one type of molecule.
A **power generator** of some sort, most likely similar in operation to a fuel cell, which would use glucose collected by a selective pump rotor to generate enough energy to power the device.
Water ballast chambers, to control buoyancy.
Various types of **sensors**, to determine the concentrations of oxygen and carbon dioxide in the vicinity, and monitor the pressure within the gas storage tanks.
A tiny computer would be needed to interpret input from the sensors, and use the data to govern gas flow rates and power distribution. The computer would need only modest processing power, by the standard of normal sized computers, but the computing core and the data storage would have to fit inside a unit 124 nm across.
Pressure transducers on the outside of the structure have been proposed as a receiver for programming instructions, sent by a physician via an encoded series of compression pulses.

È un nanorobot a tutti gli effetti e dal punto di vista fisico è fattibile.

Da questo punto in poi negli anni successivi è un fiorire di progetti riguardanti robot che viaggiano nel corpo umano (alcuni ridicoli, vedi video slide 15). Quindi la domanda che sorge è: stiamo parlando di filosofia o ingegneria?

Mauro Ferrari è considerato da tutti il padre della nanomedicina: afferma che non deve essere il campo degli ingegneri ma deve riguardare anche la biologia molecolare.

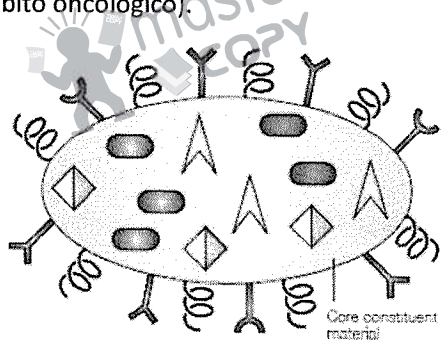
Esempio banale per fare capire che cos'è la nanomedicina. Tra farmaci originali o generici quello che cambia sono gli eccipienti. Viene insegnato a scegliere il farmaco generico ("tanto è uguale") ma in realtà c'è molta differenza, gli eccipienti sono il "segreto" del farmaco. L'obiettivo della nanomedicina è infatti quello di creare eccipienti intelligenti, o meglio che rendono il farmaco intelligente.

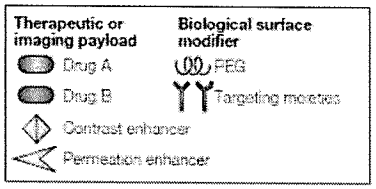
Il primo concetto teorizzato da Ferrari è che non è necessario inventare nuovi principi attivi perché ce li abbiamo già tutti praticamente, dobbiamo solo renderli, con i giusti eccipienti, più intelligenti per la funzione per la quale sono stati progettati.
Esistono tante molecole che sono create con successo dai biochimici ma per ogni 100.000 molecole solo una piccola parte, in genere 100, viene testata sugli animali.
Inoltre, ci sono molecole che funzionano molto bene in vitro ma poi in vivo hanno un esito diverso per vari motivi come assenza di specificità, tossicità, farmacodinamica, farmacocinetica... tutti problemi che hanno fatto scartare tante molecole prima dell'avvento della nanomedicina.

L'idea sostanziale è quella di rivisitare i farmaci facendo delle formulazioni più intelligenti che riescano ad andare soltanto sul nostro target.

1.4 La nanoparticella schematizzata

È un trasportatore di farmaci (uno o più di uno, come nei farmaci oncologici).
Ci possono essere varie strategie per sfuggire al sistema immunitario, come la PEG internalizzazione o targetizzazione da parte della Res per aumentare l'emivita di questi farmaci.
Sulla superficie poi posso mettere:
- una serie di ligandi specifici per un certo target cellulare;
- sostanze per funzionalizzare la nanoparticella in modo, ad esempio, da farle attraversare la barriera ematoencefalica;
- enzimi di contrasto che permettano di seguire il farmaco in real time nel paziente (molto importanti in ambito oncologico).





Caratteristiche di un nanocarrier ideale:

- ***Biocompatibile e biodegradabile:***

è molto importante. Non è scontato perché purtroppo spesso il concetto di nanomedicina e nanoparticella è associato a quello di tossicità, infatti un luogo comune dei nanocarrier è che sono tossici. Chiaramente dipende dal tipo di nanoparticella, non bisogna generalizzare.

Eclatante è il caso dell'amianto: nel 2003-2004 uscì un lavoro che diceva che i nanotubi di carbonio si comportano come l'amianto, ciò provocò il panico e indusse diffidenza verso tutti i nanomateriali. Se andiamo a leggere questo articolo vediamo che hanno utilizzato dei nanotubi lunghi 100-300nm e hanno detto che inalando queste particelle si prende il tumore ai polmoni (e grazie al cavolo). Ovviamente così sono tossici ma hanno utilizzato particelle troppo grandi e le hanno fatte inalare, ma nessuno utilizzerebbe mai questi carrier per applicazioni mediche. Infatti, in genere si utilizzano particelle di dimensioni di 1-2micron. Questo articolo ha fatto la storia, dopo di che è stato molto difficile trovare finanziamenti in questo ambito perché l'opinione pubblica conta moltissimo.

In conclusione, il concetto fondamentale è che il 90% dei finanziamenti, test, energie devono essere spesi per dimostrare la biocompatibilità.

- ***Specificità:***

devono riconoscere uno specifico target cellulare.

- ***Protezione del farmaco dalla degradazione prematura:***

deve avere un'emivita sufficientemente lunga.

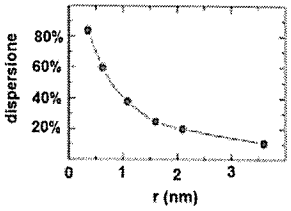
- ***Invisibile al SI.***
- ***Monitorabili in vivo.***
- ***Terapia cellulare:***

ovviamente devono adempiere alla loro funzione che può essere terapia cellulare, terapia genica, terapia oncologica [...]

1.5 Le proprietà nanoscopiche

Perché la nanoscala è interessante?

Ha molti vantaggi nello sviluppo di farmaci La nanoscala aumenta la ***dispersione*** = percentuale di atomi di superficie rispetto al numero totale di atomi. La dispersione aumenta esponenzialmente al diminuire della dimensione: tanto più piccolo è un materiale tanto maggiore sarà il numero di atomi sulla superficie.

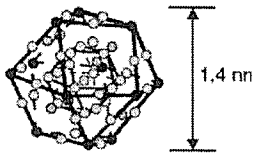


Dispersion:

% surface atoms on total atoms

Gli atomi di superficie sono responsabili nella maggior parte dei casi delle proprietà del materiale.

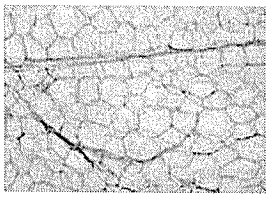
Nanomaterials are different from bulk materials because their properties are influences by surface atoms



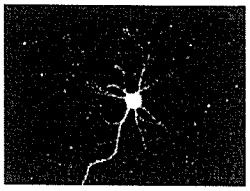
Esempio numerico pratico:

supponiamo di avere 1mg di oro nella forma di particelle che hanno volume di 1 mm_3 oppure nella forma di particelle che hanno un volume di 1 nm_3. Se andiamo ad osservare la superficie esposta da questo mg di oro vediamo che nel secondo caso si ha una superficie superiore di 1 milione di volte. La massa è sempre la stessa (1 mg di oro) ma cambia la quantità di superficie esposta -> più superficie, più interazioni.

Se prendiamo ad esempio un adipocita ed un neurone vediamo che è la superficie a giocare un ruolo fondamentale.



Adipocyte



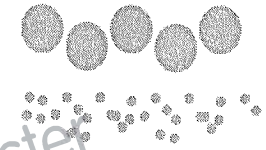
Neuron

Altre considerazioni: le leggi di Newton

Forza = Massa x Accelerazione
Attrito = Coeff di attrito x Velocità

Cosa succede se facciamo il down scaling (riduciamo le dimensioni)?

$V=4/3\ \pi\ r3$



La *massa cambia con il cubo del raggio* della particella, mentre *il coefficiente di attrito è una funzione lineare del raggio.*

The latter exhibit 10^6 bigger surface area compared to the first

Inertia dominates:

force=mass×acceleration

Friction dominates:

force=friction×velocity

Scaling Laws:

mass~radius³

friction~radius

Nanoscale biological systems are dominated by friction, not inertia!

master COPY

Quindi la conseguenza delle leggi di down scaling è che quando parliamo di nanoscala l'inerzia diventa trascurabile mentre l'attrito domina.
Questo equivale a dire che i processi molecolari sono dominati dall'attrito.

Un altro concetto fondamentale è che quando parliamo di nanomateriali parliamo di un numero di atomi discreto, non infinito: insomma, è sì un numero enorme, ma comunque "finito".

Bohr radius = 0.5292Å ≈ 0.05 nm

C atom (VdW radius)=0.17 nm

In a 1nm line: 3 C atoms

In a 1nm·1nm surface: 9 C atoms

In a 1nm·1nm·1nm cube: 27 C atoms

In a 1m·1m·1m cube: $2.7 \cdot 10^{28}$ C atoms

Se vogliamo descrivere un sistema in una nanoscala non possiamo fare affidamento sulle leggi della fisica classica bensì dobbiamo utilizzare quelle della fisica quantistica.

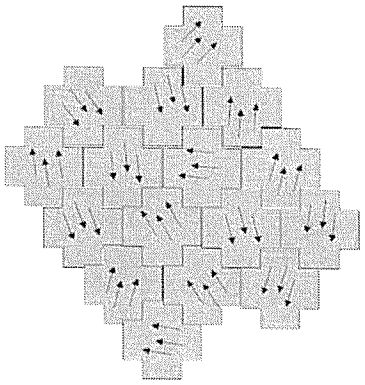
Esempio ottica:
la lunghezza d'onda della luce è più grande di quella di un nanomateriale e questo pone un limite. Le interazioni che un nanomateriale ha con la luce devono essere descritte in maniera diversa dalla fisica classica, altrimenti non riusciamo a spiegarci gli eventi.

Cerchiamo di capire il concetto alla base. Prendiamo un materiale non cristallino. Che cos'è? Quasi tutti i materiali sono non cristallini, gli unici monocristalli che conosciamo sono i diamanti.

Monocristalli = il cristallo elementare è ripetuto più volte in maniera uniforme.
Materiali non cristallini = sono formati da più cristalli orientati in modo diverso.

Pensiamo all'acqua: se la mettiamo nel congelatore subisce una transizione di fase e diventa ghiaccio.
Si formano dei punti detti ***nuclei di cristallizzazione***, che solitamente partono dalle pareti e poi si accrescono fino a quando non incontrano il *grano* adiacente. Grani adiacenti hanno orientamento diverso.

La materia nella maggior parte dei casi è formata da materiali policristallini -> formati da una serie di grani ciascuno dei quali al suo interno ha proprietà diverse. Questo è quello che avviene per i materiali bulk.



Le frecce rappresentano le proprietà del materiale (come dipolo elettrico, dipolo magnetico, la direzione del cristallo...). La cosa che ci interessa è che una proprietà può essere rappresentata da un vettore, con ampiezza e direzione.
Intuitivamente, un materiale bulk ha un numero quasi infinito di cristalli, ognuno con il vettore orientato in un modo -> le proprietà del materiale sono date dalla somma vettoriale, che alla fine tenderà a zero.

Questo significa che in una scala bulk il materiale non avrà delle proprietà particolari.

Se scendiamo alla mesoscala avrò un numero di cristalli non infinito, quindi se faccio la somma vettoriale avrò una risultante vicino a zero ma non necessariamente zero.

Se scendo ancora di più alla nanoscala anche i materiali policristallini diventano monocristallini, dove ho uno o pochi cristalli e la proprietà a cui mi sto interessando non è zero.

Questo è il motivo fondamentale per cui il materiale alla nanoscala ha proprietà diverse da materiale bulk.

Tutto ciò mi spiega il discorso iniziale quando abbiamo definito una nanomateriale come un materiale che ha almeno una delle tre dimensioni sotto i 100 nm.
L'altra condizione era che si comportasse come oggetto unitario -> spiega perché i nanomateriali hanno proprietà uniche.

Esempio: ***Grafite vs Diamante.***
C'è una differenza in termini di struttura cristallina, ibridazione sp2 vs sp3.

La grafite è fatta da diversi strati che interagiscono tra loro con interazioni deboli, infatti la punta della matita si sfalda facilmente.
Se invece consideriamo il layer monoatomico, cioè il *grafene*, scopriamo che è uno dei materiali più robusti conosciuti ad oggi.

Stiamo parlando di C60 (*Fullerene*) e *Nanotubi di carbonio*.