



# *Sistemi multifunzionali per il rilascio controllato di farmaci a base di acidi nucleici (NABD)*

*Prof. Ing. Gaetano Lamberti*

"4a Conferenza Nazionale del  
Programma N.I.C."



Milano, 1 - 2 Dicembre 2010  
Auditorium Federchimica,  
Via Giovanni da Procida, 11

# Introduzione

- Cosa sono NABD e siRNA
- Come funzionano
- Sono efficaci?

# Introduzione

- Una nuova classe di molecole con un grande potenziale terapeutico in molte patologie umane, come alcuni tipi di cancro e patologie cardiovascolari e virali, è rappresentata dai cosiddetti **“nucleic acid based drugs – farmaci basati su acidi nucleici”** (NABDs).
- Tra di loro, una delle classi più importanti è rappresentata dagli **“small-interfering RNA – piccoli frammenti di RNA interferente”** (siRNA).
- Gli siRNA sono corte molecole di RNA, capaci di indurre la degradazione di specifiche controparti di RNA messaggero. **Gli siRNA possono essere diretti contro elementi chiave del ciclo cellulare.**

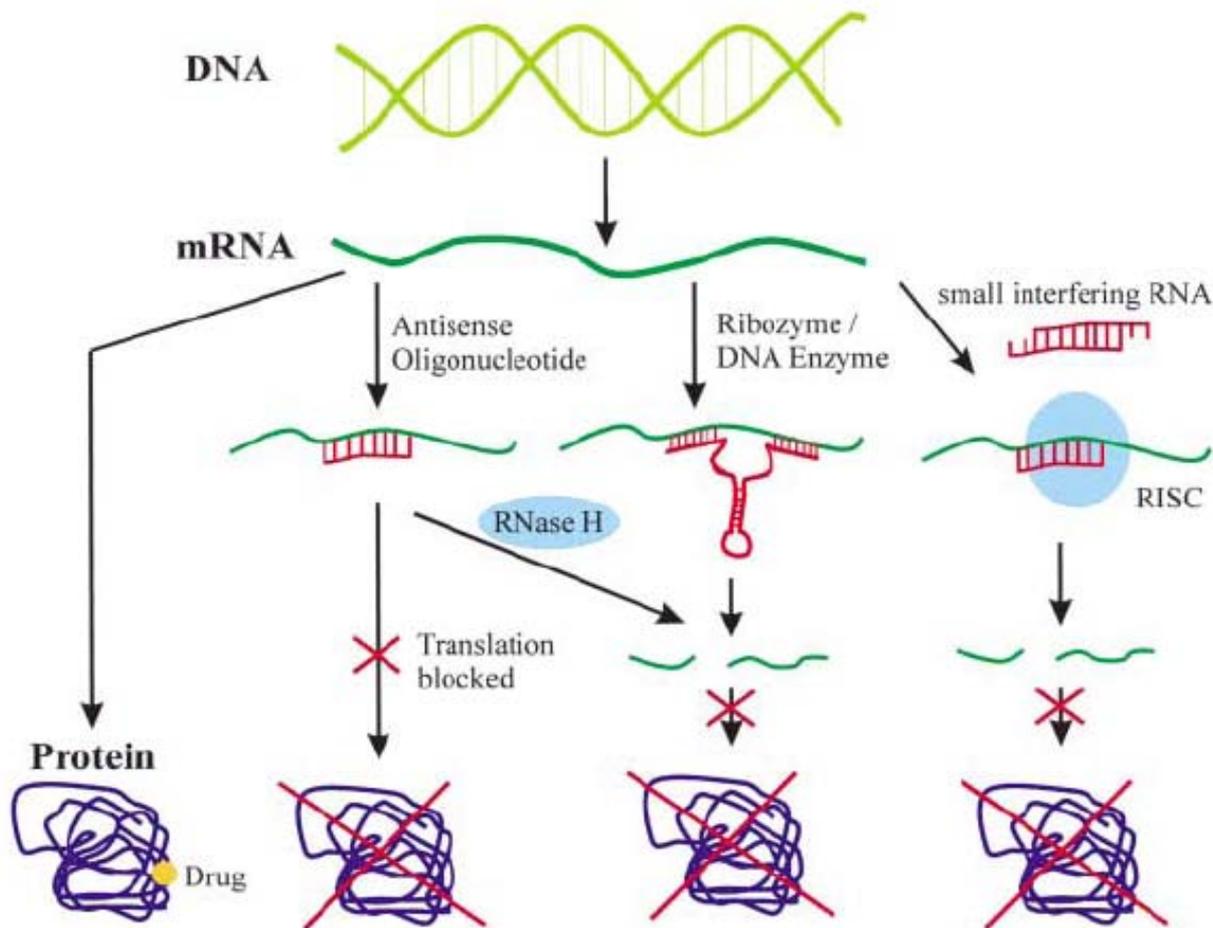
NABD

siRNA

azione

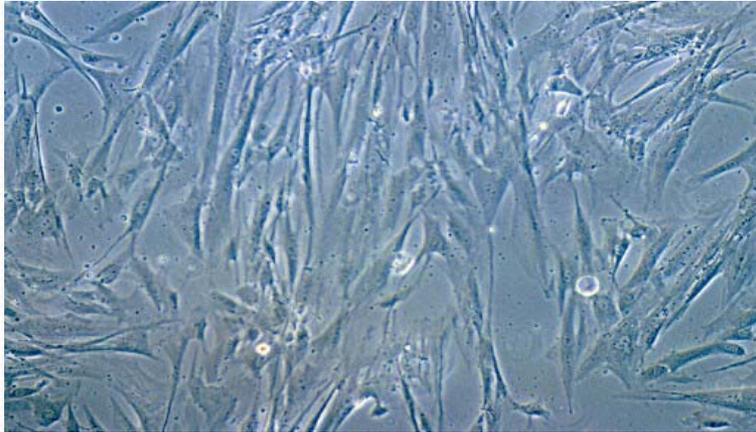


# Meccanismo di azione



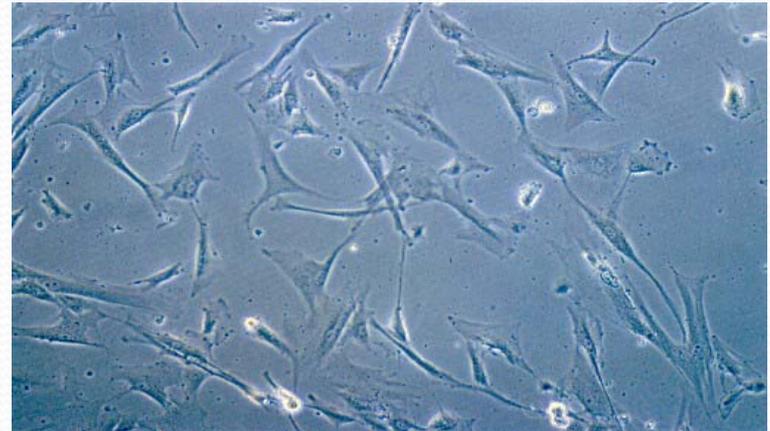
# Efficacia degli siRNA

Cellule non trattate



Numero ed aspetto di cellule vascolari muscolari lisce, non trattate e tre giorni dopo un trattamento con un siRNA progettato in modo da agire contro il “*serum respons factor*” (SRF)

Cellule trattate mediante **siSRF797**



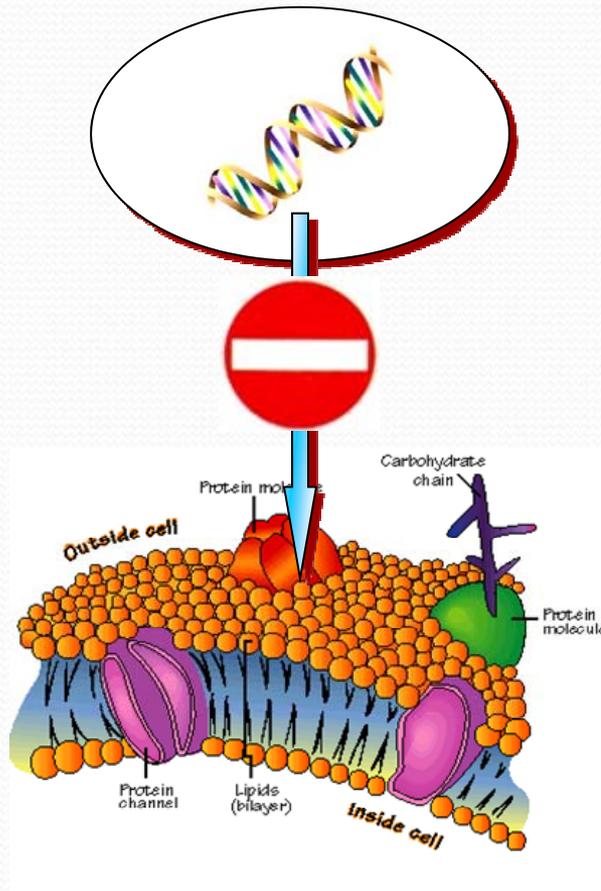
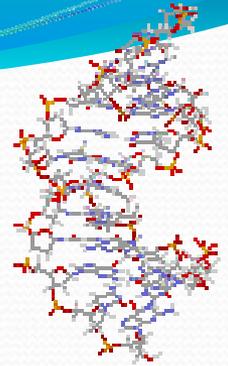
**Attività antiproliferativa**

**Ad esempio, terapia anticancro**

# Uso dei NABD nelle terapie

- Attraversamento di membrane
- Degradazione
- Sistemi di dosaggio: esempi

# Perché i NABD non sono ancora usati nelle terapie?

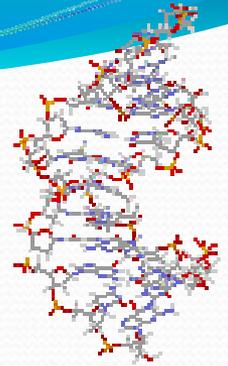


I NABD sono molecole a base di acidi nucleici, nelle condizioni fisiologiche sono di solito cariche negativamente.

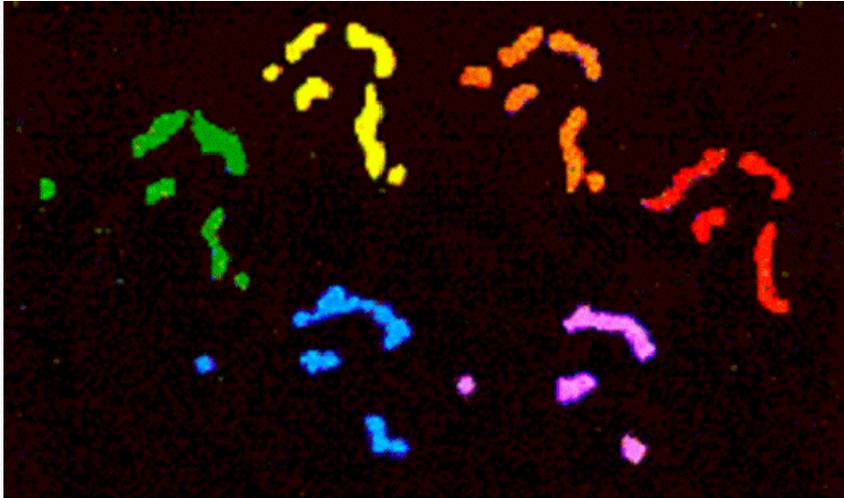
Quindi soffrono di due problemi:

1. Non possono attraversare le membrane cellulari,

# Perché i NABD non sono ancora usati nelle terapie?



Immagini AFM (Microscopia a Forza Atomica – falsi colori)



I NABD sono molecole a base di acidi nucleici, nelle condizioni fisiologiche sono di solito cariche negativamente.

Quindi soffrono di due problemi:

1. Non possono attraversare le membrane cellulari,
2. In ambienti fisiologici, vanno incontro a rapida degradazione per effetto delle nucleasi cellulari.

# Sistemi di dosaggio (nano-strutturati)

La soluzione a questi problemi è la messa a punto di *sistemi di dosaggio* opportuni, che provvedano a

**1. Veicolare** le molecole di NABD attraverso le membrane cellulari,

**2. Proteggere** le molecole dall'azione degradatrice degli enzimi.

Dovendo agire su scala nanoscopica (attraversamento delle membrane, flusso nei capillari), si tratterà di *sistemi di dosaggio nano-strutturati*.

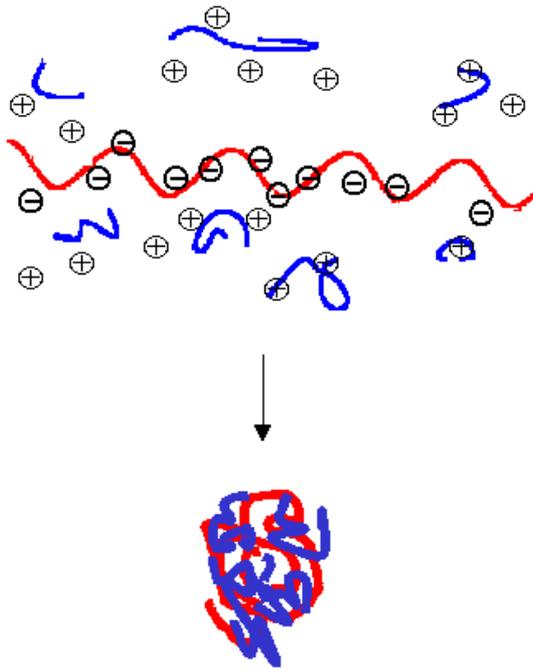


# Ad esempio: “*policationi*”

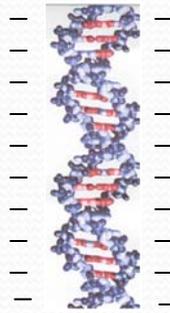
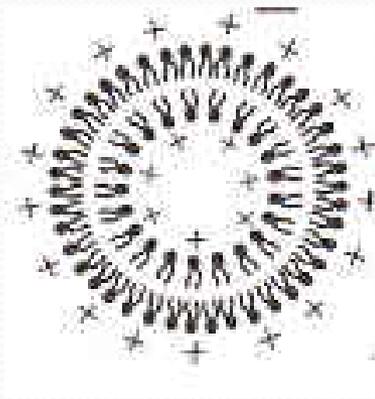
## *POLICATIONI*

Polimeri anche a corta catena, con carica globale positiva, insieme con le molecole di NABD possono formare complessi con carica globale positiva o neutra, capaci di oltrepassare le membrane cellulari.

**Esperti:** laboratorio  
prof. **Gennara Cavallaro**,  
Università di Palermo

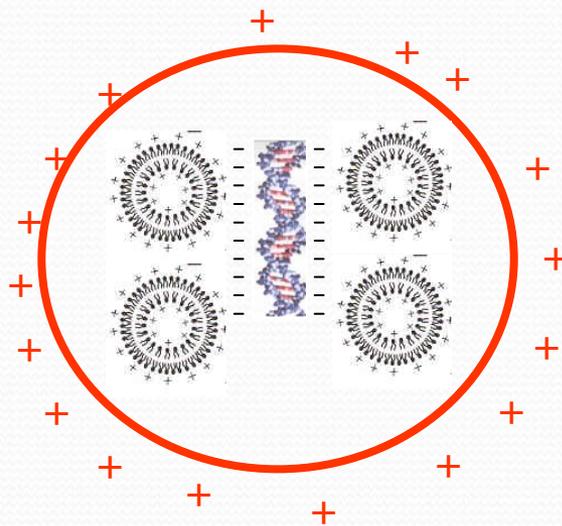


# Ad esempio: "liposomi"



## LIPOSOMI

Il liposoma è una vescicola fosfolipidica, generalmente di dimensioni nanometriche a carica superficiale positiva. Possono integrare le molecole di NABD e consentirne l'attraversamento della parete cellulare.

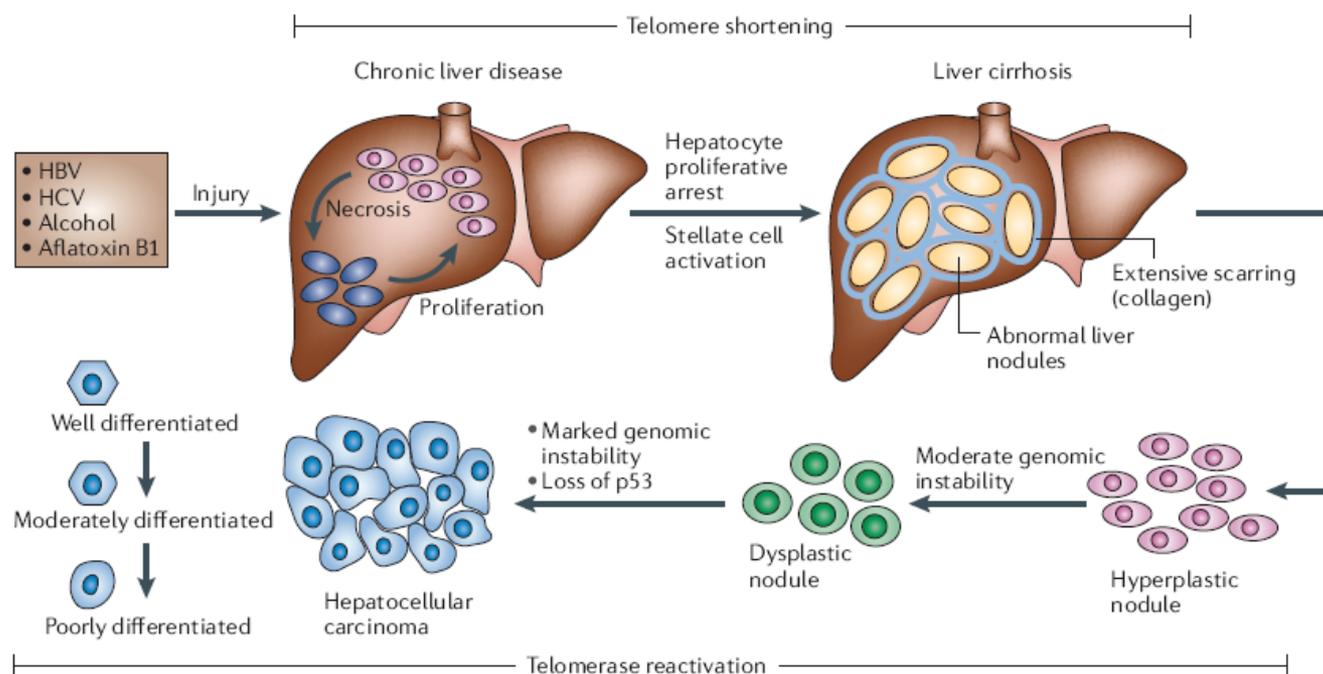


# Alcuni esempi applicativi

- Il trattamento dell'HCC (Hepato Cellular Carcinoma)
- La tecnica del “gel-paving” nel trattamento della in-stent restenosi

# Il trattamento dell'epatocarcinoma

- Il carcinoma epatico umano (HCC) è il tipo di cancro al fegato più diffuso.
- Nel 2005 l'American Cancer Society ha stimato 667,000 nuovi casi di cancro al fegato.
- Con le terapie in uso, la sopravvivenza a 5 anni è meno del 8.9% negli USA.

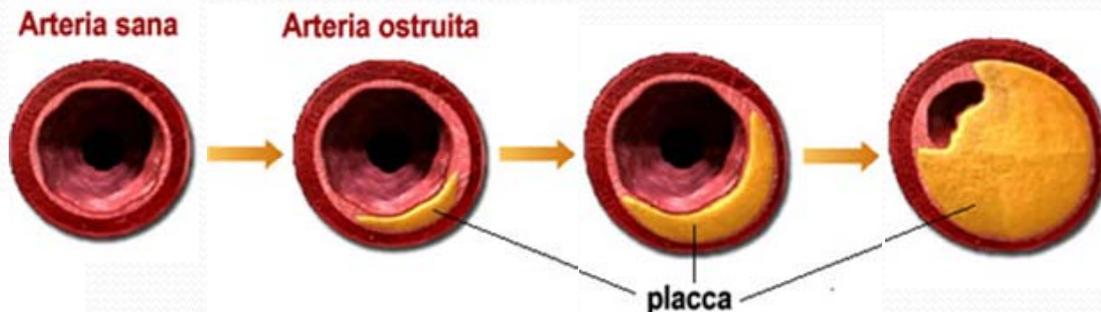


Farazi & DePinho *Nature Reviews Cancer* 6(9) 674-687  
(2006)

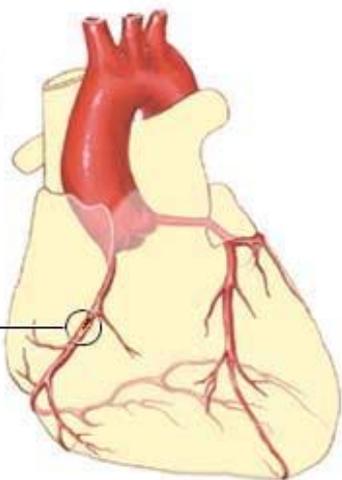
- Gli siRNA potrebbero essere diretti contro i fattori di trascrizione (E2F1 e E1/2), che sono stati recentemente correlati nella genesi dell'HCC.
- Un sistema di dosaggio nano-strutturato potrebbe essere di aiuto nella messa a punto della terapia.

# La tecnica del "gel-paving"

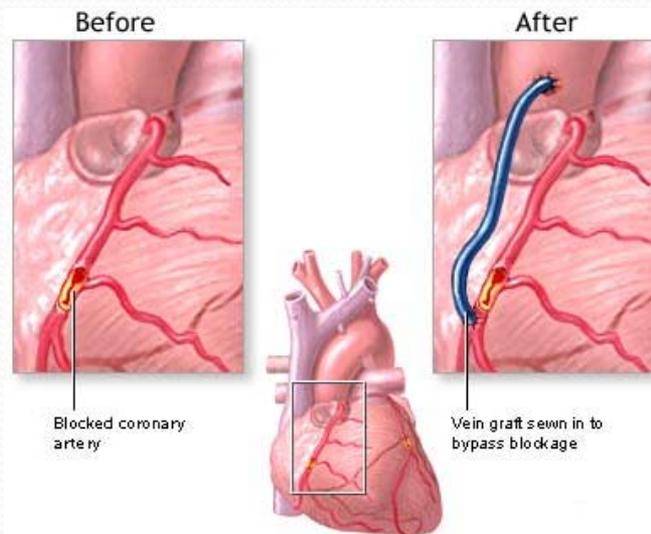
## 1. Il problema clinico: l'aterosclerosi



Blocked right coronary artery



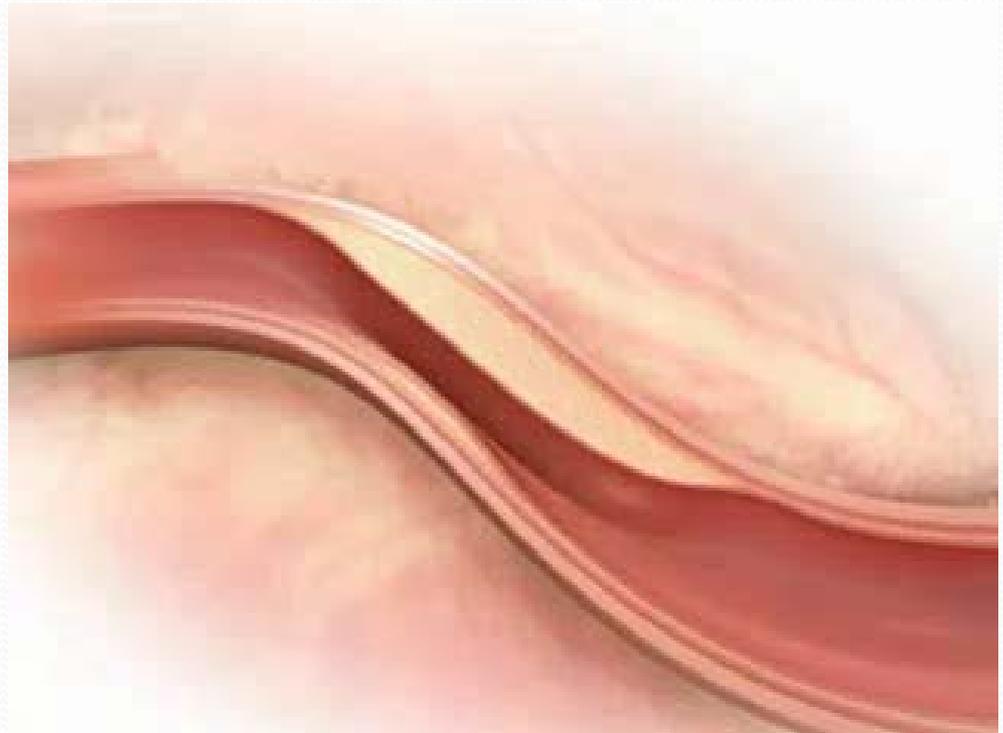
## 2. La prima soluzione: il by-pass aorto-coronarico



**Problema:** tecnica molto invasiva

# La tecnica del “gel-paving”

3. Soluzione: PTCA  
(Angioplastica Percutanea  
Transluminale Coronarica)
  1. Incisione nell'arteria femorale o radiale;
  2. Inserimento nell'incisione di un catetere con **palloncino**;
  3. Raggiungimento dell'ostruzione;
  4. Insufflaggio di aria nel palloncino per comprimere la placca contro le pareti e ripristinare il corretto flusso sanguigno.

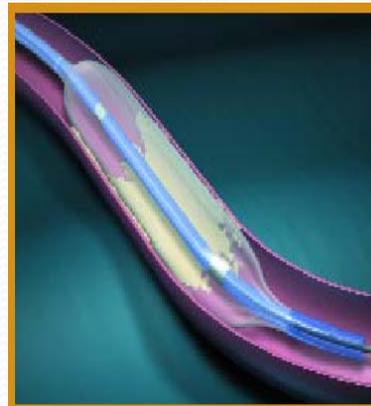
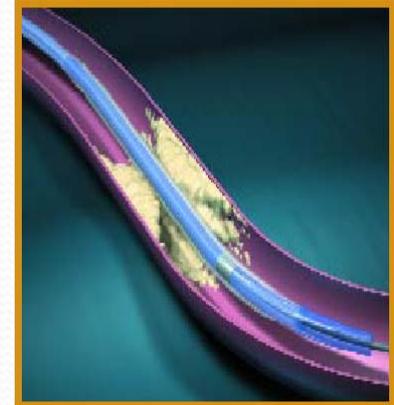
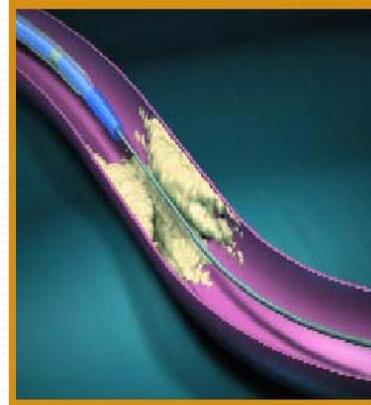


**Problemi:** aneurismi, re-stenosi.

# La tecnica del “gel-paving”

## 3. Soluzione: PTCA (Angioplastica Percutanea Transluminale Coronarica)

1. Incisione nell'arteria femorale o radiale;
2. Inserimento nell'incisione di un catetere con **palloncino**;
3. Raggiungimento dell'ostruzione;
4. Insufflaggio di aria nel palloncino per comprimere la placca contro le pareti e ripristinare il corretto flusso sanguigno.

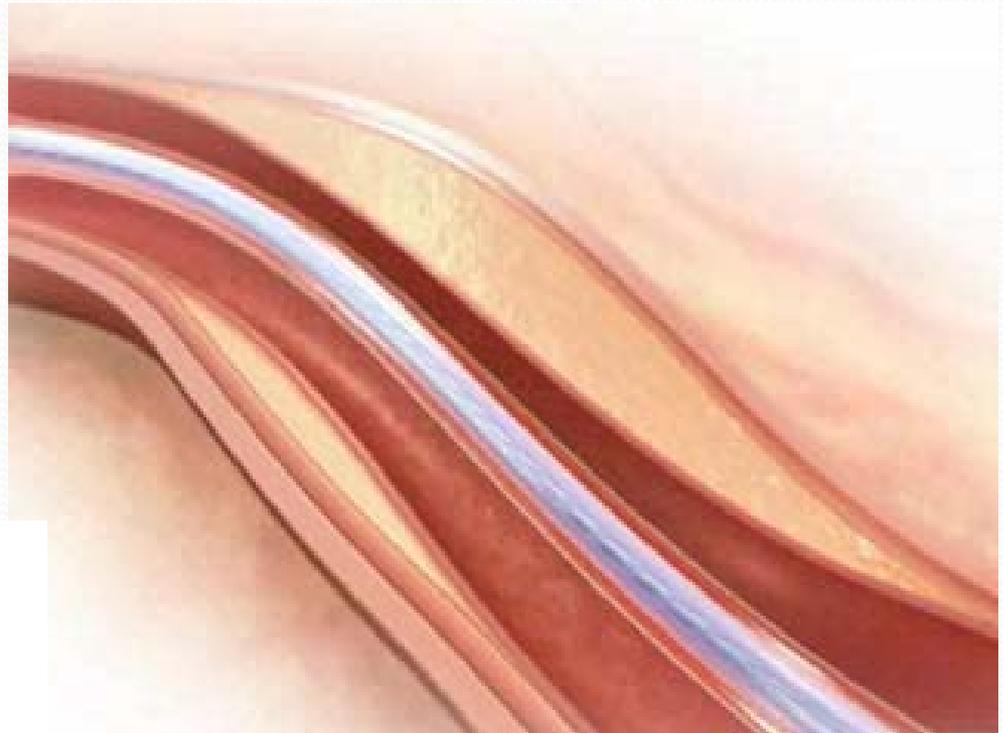


**Problemi:** aneurismi, re-stenosi.

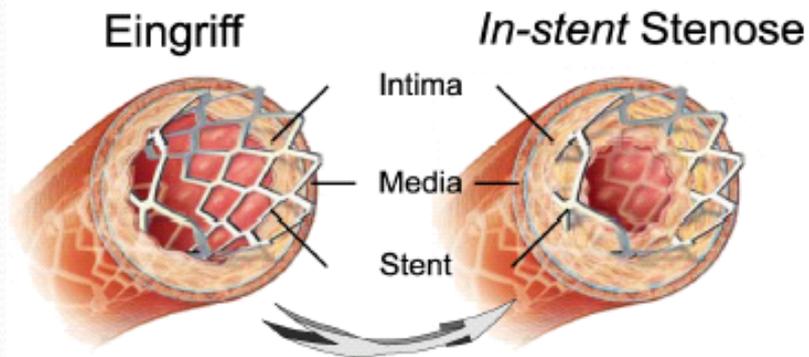
# La tecnica del “gel-paving”

4. Soluzione: Inserzione di uno **stent** coronarico

1. Dopo l'uso del palloncino si inserisce nell'incisione un nuovo catetere con palloncino e stent;
2. Si insuffla aria nel palloncino per espandere e posizionare lo stent.



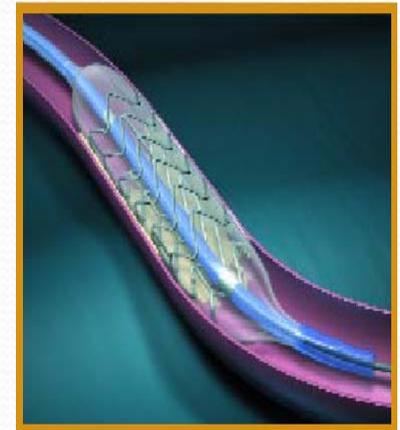
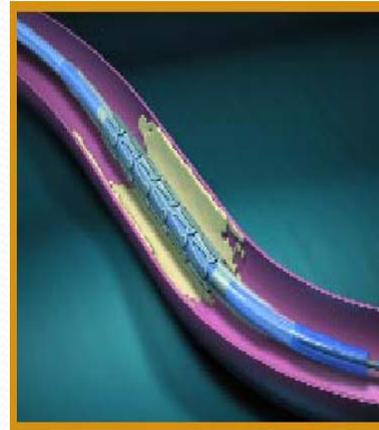
**Problema:** la re-stenosi da stent.



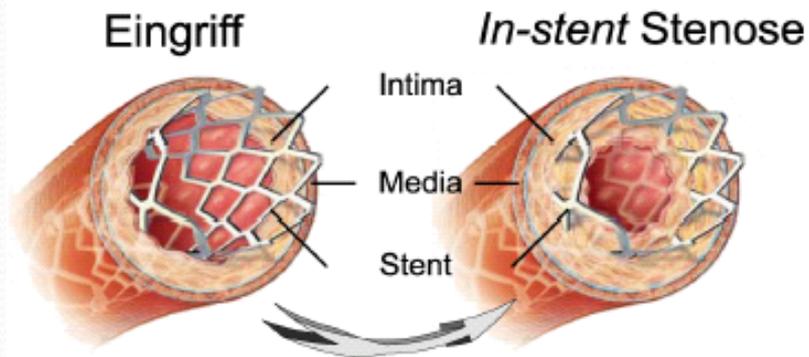
# La tecnica del “gel-paving”

4. Soluzione: Inserzione di uno **stent** coronarico

1. Dopo l'uso del palloncino si inserisce nell'incisione un nuovo catetere con palloncino e stent;
2. Si insuffla aria nel palloncino per espandere e posizionare lo stent.



**Problema:** la re-stenosi da stent.



# La tecnica del “gel-paving”

5. Soluzione: uso degli stent **medicati** (cioè sullo stent è stato depositato un polimero e un farmaco antiproliferativo che impedisca la re-stenosi).

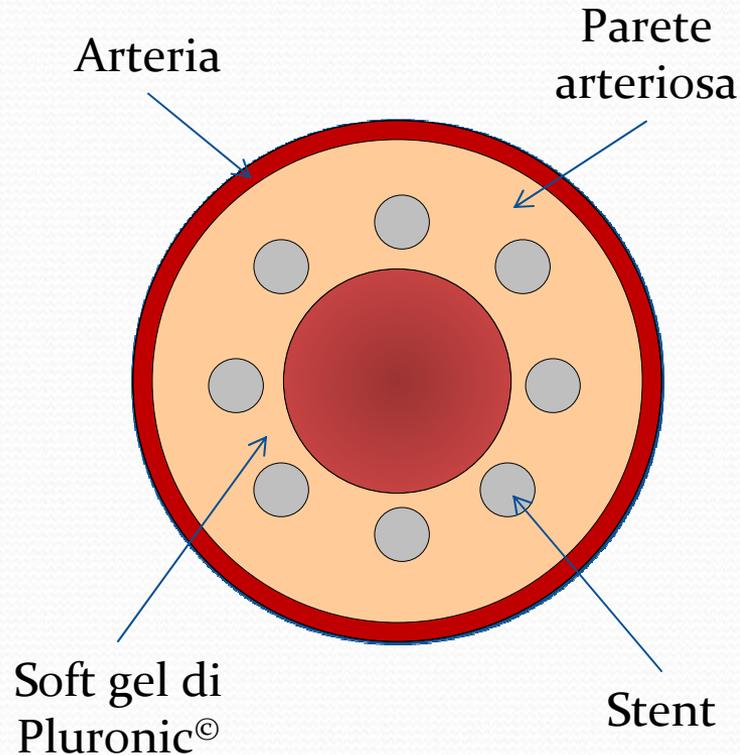
**Problemi:** si può caricare poco farmaco, il farmaco viene dilavato dal torrente ematico, i farmaci antiproliferativi sono veleno.



# La tecnica del “gel-paving”

6. Soluzione: la tecnica del “gel-paving” (ideata dai proff. **Mario e Gabriele Grassi**, Università di Trieste).

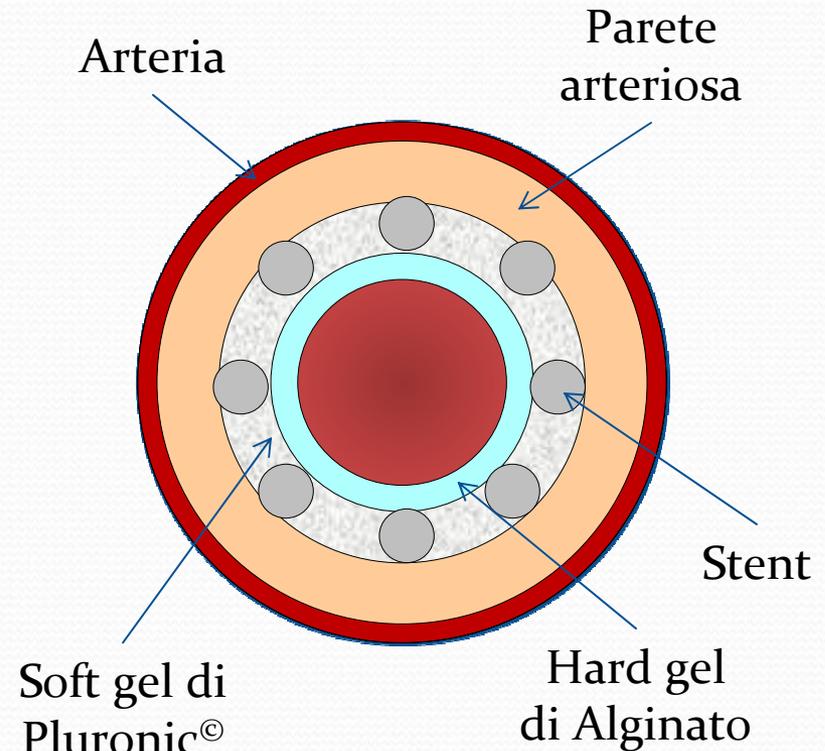
1. Viene inserito lo stent,
2. Viene ricoperto da una miscela di pluronico per formare un soft gel e di NABD racchiusi in un sistema di dosaggio nanostrutturato.



Il soft gel viene facilmente dilavato dal torrente ematico. La restenosi avviene ugualmente.

# La tecnica del “gel-paving”

7. Soluzione: perfezionamento della tecnica del “gel-paving”.
1. Viene inserito lo stent,
  2. Viene ricoperto da una miscela di pluronico per formare un soft gel, di alginato per formare un hard gel e di NABD racchiusi in un sistema di dosaggio nanostrutturato,
  3. Viene indotta la reticolazione chimica dell’hard gel,
  4. Il farmaco viene veicolato verso l’intima attraverso il soft-gel e protetto dal torrente ematico dall’hard-gel,
  5. Comunque se viene rilasciato nel sangue non è un veleno (viene distrutto dagli enzimi del sangue).



*Sistemi multifunzionali per il rilascio controllato di  
farmaci a base di acidi nucleici (NABD)*

# Aggregazioni Pubblico-Private

# Aggregazioni Pubblico-Private



*Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca*

*Dipartimento per l'università, l'alta formazione artistica, musicale e coreutica e per la ricerca*  
Direzione Generale per il Coordinamento e lo Sviluppo della Ricerca

Prot. 713/Ric

**PROGRAMMA OPERATIVO NAZIONALE  
RICERCA E COMPETITIVITÀ 2007-2013  
Regioni della Convergenza  
Campania, Puglia, Calabria, Sicilia**

## **TITOLO III**

**Creazione di nuovi Distretti e/o nuove Aggregazioni Pubblico-Private**



Università degli Studi di Salerno  
[www.minerva.unisa.it](http://www.minerva.unisa.it)



**Sistemi per il rilascio controllato  
di farmaci a base di NABD**



Milano, 1 - 2 Dicembre 2010  
Auditorium Federchimica,  
Via Giovanni da Procida, 11

# Natura dell'Aggregazione (internazionalizzazione)

## TITOLO III

### Creazione di nuovi Distretti e/o nuove Aggregazioni Pubblico-Private

#### Articolo 14

#### *Nuovi Distretti e/o nuove Aggregazioni Pubblico-Private*

1. Ai fini dell'attuazione dell'Azione I "Distretti di Alta tecnologia e relative reti" prevista nell'ambito dell'Asse I – Sostegno ai mutamenti strutturali del PON "Ricerca e Competitività 2007-2013 per le Regioni della Convergenza (Calabria, Campania, Puglia, Sicilia) cofinanziato dal Fondo Europeo di Sviluppo Regionale (FESR) dell'Unione Europea e da risorse nazionali (Fondo di Rotazione - FDR) e in coerenza con quanto contenuto nella Linea d'intervento n. 2 degli APO stipulati tra il MIUR e le Regioni della Convergenza, il MIUR intende rivolgersi ai soggetti economici e scientifici attivi nelle Regioni stesse invitandoli a presentare specifici Studi di Fattibilità, volti alla definizione degli obiettivi, delle tematiche specifiche, degli aspetti istituzionali e organizzativi e delle linee di azione per la costituzione e della relativa messa in rete, nei settori prioritari indicati nei relativi APQ, di nuovi Distretti ad Alta Tecnologia.
2. Agli stessi fini di cui al precedente comma 1, gli Studi di Fattibilità descritti possono riguardare la costituzione di nuove Aggregazioni Pubblico/Private, anche promosse da università e/o enti pubblici di ricerca, dalla spiccata vocazione internazionale, di dimostrato interesse per il sistema delle imprese, di elevato impatto economico sul territorio delle Regioni della Convergenza, con la specifica finalità di aggregare una pluralità di soggetti pubblici e privati nell'ambito di medesimi obiettivi di ricerca e sviluppo.

Soggetti scientifici  
attivi nelle Regioni  
della Convergenza:  
**Università degli  
Studi di Salerno**

Aspetti legati all'interna-  
zionalizzazione:  
**Consorzio 7PQ**



# Una recente proposta per il 7PQ

Proposal full title:

## Nanostructured Devices for Trans Membrane Delivery of Nucleic Acid Based Drugs

Proposal acronym:

### NanoNABD

Type of funding scheme:

**Collaborative project, Large-scale integrating project**

Work program topic addressed:

**NMP.2011.1.2-2 New targeted therapy using nanotechnology for transport of macromolecules across biological barriers**

Name of the coordinating person:

**Prof. Gennara Cavallaro, University of Palermo, Italy**



# Il consorzio per il 7PQ

## List of participants:

Participant no.	Participant legal name	Country	Organization type
1 (coordinator)	University of Palermo	Italy	Academic
2	University of Trieste	Italy	Academic
3	University of Salerno	Italy	Academic
4	University of Magna Graecia	Italy	Academic
5	Institute "Mario Negri"	Italy	Academic
6	University of Ljubljana	Slovenia	Academic
7	University of Patras	Greece	Academic
8	Free University of Berlin	Germany	Academic
9	Technical University of Berlin	Germany	Academic
10	University of Munich	Germany	Academic
11	Technical University of Berlin	Germany	Academic
12	University of Tel-Aviv	Israel	Academic
13	IBSMED	Italy	LE
14	Cellvax	France	SME
15	Nealys	Italy	SME
16	Fondazione "Maugeri"	Italy	Academic



# Azioni ed attori

- Attività da svolgere
- Il Gruppo “Transport Phenomena and Processing”
- L’Università degli Studi di Salerno
- Il Dipartimento di Ingegneria Chimica e Alimentare
- Il Centro NanoMates

# Attività da svolgere

1. Progettazione e modellazione di NABD
2. Sintesi di NABD
3. Messa a punto di sistemi di dosaggio (DS)
4. Caratterizzazione dei DS
5. Tests in-vitro
6. Tests in-vivo
7. Tests pre-clinici
8. Aspetti regolatori e di farmacovigilanza





## Ricerca e Sviluppo

Home | centri\_e\_vari | minerva | ric

R e S/R and D

Home Page

Servizi/Services

Prodotti/Products

Persone/People

Links/Links

R e S/R and D

Ricerca e Sviluppo

Farmaci/Pharmaceutics

Materiali/Materials

Alimenti/Foods

# Transport Phenomena Processes

*Fenomeni di Trasporto & Processi*

**Scegliere**

**l'argomento/Select**

**the subject**

- Farmaci / *Pharmaceutics*
- Materiali / *Materials*
- Alimenti / *Foods*

### Intro TP&P

Il gruppo di ricerca **Fenomeni di Trasporto & Processi** (Transport Phenomena & Processes, TP&P) studia i processi tipici dell'industria chimica, farmaceutica e alimentare e il comportamento dei relativi prodotti. Tali scopi sono perseguiti operando dal punto di vista ingegneristico, cioè utilizzando gli strumenti tipici degli ingegneri chimici (bilanci - relazioni di equilibrio - equazioni di trasporto), nella osservazione e nella descrizione dei fenomeni reali. Il gruppo è una unità di ricerca dell'Università

# Il Campus di Salerno a Fisciano



# Presentazione del DICA



- Il DICA viene istituito nel 1991.
- È composto da:
  - 32** DOCENTI
  - 30** ASSEGNISTI E BORSISTI
  - 16** DOTTORANDI
  - 14** PERSONALE NON DOCENTE

[www.dica.unisa.it](http://www.dica.unisa.it)

## Perché un Dipartimento di Ingegneria Chimica e Alimentare?

- Settore strategico in Italia ed in Campania
- Diversificazione regionale delle attività di ricerca
- Vocazione territoriale nel settore alimentare
- Impulso all'innovazione tecnologica



# Presentazione del DICA

## Laboratori



**oltre 2000 m<sup>2</sup> di laboratori**  
**dotati di strumenti analitici avanzati ed impianti pilota per lo studio dei materiali, l'analisi di processo, la sperimentazione di nuove tecnologie e la realizzazione di prototipi di prodotti e manufatti**

- IMPIANTI DI TRASFORMAZIONE DELLE MATERIE PLASTICHE
- IMPIANTI CHIMICI & OPERAZIONI UNITARIE
- CATALISI
- TECNOLOGIA DEI POLIMERI
- PROPRIETA' TERMODINAMICHE E DI TRASPORTO
- FENOMENI DI TRASPORTO IN FARMACOLOGIA
- FLUIDI SUPERCRITICI
- MICROBIOLOGIA INDUSTRIALE
- TECNOLOGIA ALIMENTARE



# Il Centro NanoMates

Presso l'Università degli Studi di Salerno è attivo dal 2007 anche il Centro Interdipartimentale Nano Mates (Research Centre for **NANOMA**terials and nano**TE**chnology at **S**alerno University).

Esso costituisce una rete di ricerca nel Campus universitario che vuole attuare una forte sinergia tra ricercatori che si occupano di nanoscienza e di nanotecnologia presso gli otto Dipartimenti che aderiscono al Centro.



[www.nanomates.unisa.it](http://www.nanomates.unisa.it)



Università degli Studi di Salerno  
[www.minerva.unisa.it](http://www.minerva.unisa.it)



Sistemi per il rilascio controllato  
di farmaci a base di NABD



Milano, 1 - 2 Dicembre 2010  
Auditorium Federchimica,  
Via Giovanni da Procida, 11