



**Titolo progetto:** Sviluppo di nuove strutture GNR-PNP (**Gold NanoRods Polymeric NanoParticles**) per applicazioni diagnostiche e terapeutiche mirate

**Acronimo:** GNR-PNP

**Coordinatore:** SiTec Consulting di Hana Danan

---

### **Abstract (max 5 righe)**

I Gold NanoRods (GNR) sono nanoparticelle di oro di forma elongata con caratteristiche chimico-fisiche peculiari, direttamente correlate alla loro forma. I GNR possono essere usati come agenti diagnostici nell' *imaging* biologico, ad alta sensibilità ed efficienza di contrasto, utilizzando varie tecnologie come la microscopia in campo oscuro (*dark-field microscopy*), l' *imaging* ottico e l' *imaging* fotoacustico. In questo progetto, SiTec Consulting e i Partners (Dirivet SaS; Università di Torino; Ephoran Srl) hanno investigato la sviluppabilità di nanostrutture innovative basate su Gold Nanorods (GNR). È stata valutata *in-vitro*, su linee cellulari, e *in-vivo*, la potenziale applicazione di GNR-PNP in alcuni settori oncologici di primaria importanza, sia come agente di contrasto diagnostico, sia come possibile agente terapeutico basato su terapia fototermica con irradiazione laser.

---

### **Il problema affrontato (max 15 righe)**

Finalità generale del progetto GNR-PNP è definire la sviluppabilità di nanostrutture innovative basate su Gold Nanorods (GNR), studiare l' efficacia di vari ligandi e valutarne il potenziale di applicazione in alcuni settori terapeutici oncologici di primaria importanza, sia come agente di contrasto diagnostico, sia come agente terapeutico basato su terapia fototermica con irradiazione laser nell' infrarosso vicino (NIR). Nanostrutture basate sui GNR, grazie alle peculiari proprietà fisiche di *assorbimento plasmonico* di questi, permettono di *combinare proprietà diagnostiche con utilizzo terapeutico* in un unico sistema ("*Theranostics*") e rappresentano una delle aree di applicazione potenzialmente più valide delle nanotecnologie di tipo biomedico.

Ulteriore obiettivo del progetto è la *valorizzazione di un innovativo protocollo di sintesi chimica*, per la preparazione di GNR in ambiente acquoso, che permette di ottenere in maniera semplice e riproducibile, grazie a un processo di doppio trasferimento di fase, nanostrutture particellari amfifiliche di dimensioni inferiori ai 100 nm, contenenti GNR derivatizzati con ligandi differenti, e stabili in ambiente acquoso a pH fisiologici (GNR-PNPs). Grazie a queste caratteristiche chimico-fisiche, si prevede che le nanostrutture GNR ottenibili con il protocollo di doppio trasferimento di fase siano biocompatibili, e facilmente formulabili per somministrazioni sistemiche e/o localizzate.

---

### **Le attività realizzate (max 20 righe)**

Per raggiungere gli obiettivi del progetto, i partner hanno completato le seguenti attività:

- sono state delineate le strategie di sintesi dei GNR, e della loro incorporazione nelle polymeric nanoparticles. Inoltre, si è proceduto alla selezione degli agenti di targeting.
- Sono state scelte diverse linee cellulari, rappresentative di neoplasie frequentemente diagnosticate. In particolare si sono selezionate MCF-7, cellule derivate da metastatizzazione di adenocarcinoma mammario; CaCo-2: da adenocarcinoma del colon; A549: da carcinoma polmonare; PC-3: da carcinoma prostatico; IGROV-1, cellule derivate da carcinoma ovarico.
- Sono stati realizzati alcuni lotti iniziali di GNR-PNP “blank”, ovvero senza ligando coniugato, caratterizzate per particles size, potenziale zeta, e contenuto in oro (Au) elementare.
- Sono stati effettuati sui campioni GNR-PNP test in vitro di Optical Imaging e di CT/X-Ray Scan, per valutare la necessità di incrementare o meno il caricamento in oro (di GNR) all’ interno delle particelle colloidali. È stata definita una “baseline” di risposta, e determinato il caricamento in oro (di GNR) all’ interno delle particelle colloidali. In base ai risultati iniziali, si è provveduto ad incrementare il caricamento in Au nelle nanoparticelle, e a legare sulla superficie delle stesse un marker per OI a fluorescenza (cyanine).
- Sono state selezionate le molecole più adatte al targeting, e definite le attività di sintesi delle GNR-PNP derivatizzate con i gruppi funzionali adeguati per la coniugazione.
- Per valutare eventuali effetti citotossici dei costrutti GNR-PNP coniugati, sono state effettuate prove di proliferazione cellulare, con il saggio di vitalità MTT, sulle varie linee tumorali. Inoltre, è stata misurata l’ internalizzazione cellulare (uptake) delle nanoparticelle, e valutato l’ effetto dei ligandi specifici.
- È stato effettuato uno studio preliminare in vivo (topi nudi), per valutare la biodistribuzione di GNR-PNP-Cyanine dopo somministrazione IV. Tale studio ha confermato la possibilità di monitorare GNR-PNP-Cy in vivo mediante OI (Optical Imaging). L’attività di ricerca in vivo è stata focalizzata alla identificazione della modalità diagnostica che meglio evidenziasse le potenzialità dei costrutti GNRs-PNPs. Si sono valutate:
  - Tomografia computerizzata a raggi-x, che sfrutta le caratteristiche di assorbimento di massa ai raggi-X dell’oro.

-Imaging Ottico (OI), Con OI è stato possibile eseguire studi di distribuzione delle nanoparticles sia nell'animale sano, sia nei modelli tumorali indotti, e valutare il binding su modelli tumorali che sovra-esprimono i recettori del folato, o i sistemi di trasporto degli acidi grassi.

-Imaging Fotoacustico, che ha permesso di sfruttare la capacità di GNRs-PNPs di assorbire radiazione laser nel vicino infrarosso, combinando le immagini ottiche /NIR con quelle ottenute con lo scan a ultrasuoni

---

### **I risultati raggiunti e sfruttamento dei risultati (Max 20 righe)**

- E' stata dimostrata la possibilità di incorporare efficacemente GNR in nanoparticles polimeriche, e di modificarne la sintesi per coniugare alla superficie molecole con caratteristiche chimiche e biologiche differenti.
- Inoltre si è dimostrato *in vitro* che tali modifiche influenzano significativamente l' uptake cellulare dei costrutti, senza indurre una rilevante tossicità.
- *In vivo*, si è dimostrato che le differenti tecniche di imaging oggi stato dell' arte sono sicuramente applicabili nella detection dei sistemi GNR-PNP, e che esistono le potenzialità per la possibile applicazione in terapia oncologica.
- Inoltre, i risultati ottenuti con l' imaging fotoacustico confermano un uptake intratumorale delle nanoparticelle circolanti, e suggeriscono la necessità di aggiustamenti di dosaggio, e ottimizzazione delle caratteristiche fisiche delle GNR-PNP (dimensioni e carica superficiale).
- Sono state identificati ligandi lipidici con particolare affinità verso specifiche linee cellulari tumorali

Si prevede che i risultati ottenuti in questo progetto, opportunamente pubblicizzati, favoriscano l' interesse imprenditoriale in questo settore, e la genesi di uno o più progetti di sviluppo preclinico e possibilmente clinico, che coinvolgano un network di partner accademici ed industriali che si aggiunga al consolidato "nucleo di partners" attuale. Tali progetti potranno generare un ritorno economico nel breve-medio termine, e favorire la crescita delle imprese coinvolte. Inoltre, la possibilità di utilizzo di GNR-PNP per l'eradicazione selettiva di cellule tumorali con terapia localizzata, permetterà di incrementare le opzioni diagnostiche e terapeutiche in oncologia, con un possibile miglioramento della qualità di vita dei pazienti.

---

### **I numeri del progetto:**

- Altri partner privati:
  - DiriVet SaS
  - Ephoran Multi Imaging Solutions Srl

- Altri pubblici
  - Università di Torino, Facoltà di Medicina Veterinaria, Dipartimento farmacologia e tossicologia
- Collaboratori Esterni per SiTec Consulting (fuori Regione)
  - Dr. Mauro Comes Franchini, Università di Bologna , Facoltà di Chimica Industriale
- Numero Totale partner: **4**
- Numero ricercatori dipendenti (tempo determinato e indeterminato e cocopro) coinvolti: **6**
- Durata in mesi: **12**
- Budget totale: **euro 157. 270,00**
- Finanziamento: **euro 72. 675,00**

Numero di pubblicazioni scientifiche: N/A

Numero di presentazione a convegni e seminari: **2**

Numero brevetti depositati: **1** valutazione di patentibilità

Numero posti di lavoro a tempo indeterminato o cocopro creati: **1**

Numero posti di lavoro mantenuti a fine progetto: **6**

Numero di ricercatori pubblici coinvolti: **2**

---

### **Contatto per ulteriori informazioni**

Hana Danan, Ph.D.

SiTec Consulting

Via Ribes 5, Colletterto Giacosa (TO)

e-mail: [info@sitec-consult.com](mailto:info@sitec-consult.com)

Tel: +39 3493283430