

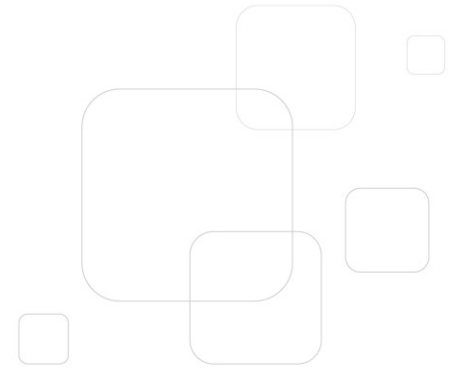
Nº 176820

Plataformas tecnológicas de nanoencapsulação como estratégia no desenvolvimento de sistemas de liberação controlada

Natalia Neto Pereira Cerize

*Palestra apresentada no Departamento de Microbiologia. USP,
ministrada na disciplina de pós-graduação BMM5787:
Compostos Bionáticos e desenvolvimento de Drogas*

A série “Comunicação Técnica” compreende trabalhos elaborados por técnicos do IPT, apresentados em eventos, publicados em revistas especializadas ou quando seu conteúdo apresentar relevância pública.

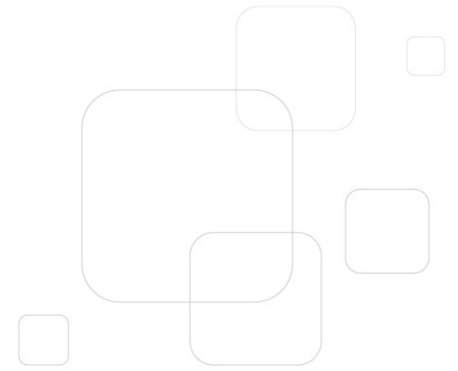


Plataformas tecnológicas de nanoencapsulação como estratégia no desenvolvimento de sistemas de liberação controlada

Dra. Natalia Neto Pereria Cerize,
Instituto de Pesquisas Tecnológicas

Agenda

- Nano/ Encapsulação
- Sistemas de liberação controlada
- Exemplos no mercado
- Plataformas tecnológicas de nanoencapsulação e aplicações como sistemas de liberação controlada – Bionano/IPT
- Soluções tecnológicas mais recentes



O Que é Nano?

NANOCIENCIA

- estudo dos fenômenos e manipulação dos materiais em escala atômica ou molecular

NANOTECNOLOGIA

- Design, caracterização, produção e aplicação de estruturas, dispositivos e sistemas, com controle de forma e tamanho, na escala nanométrica

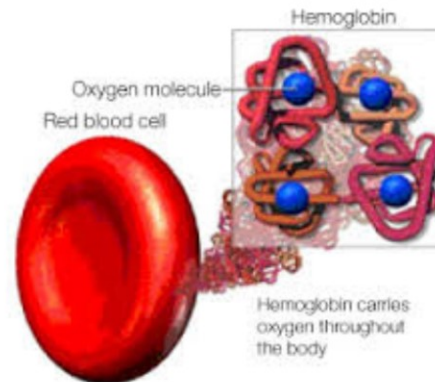
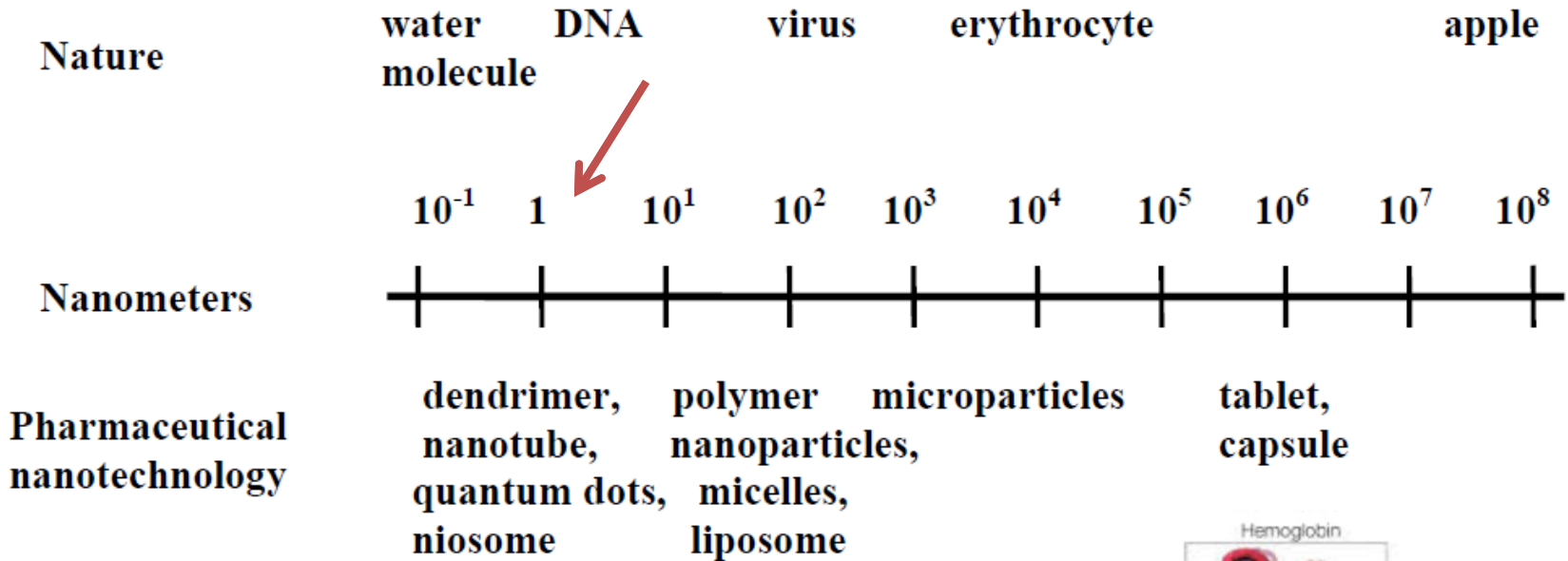
NANOTECNOLOGIA FARMACÊUTICA

- Aplicação da nanociência na área farmacêutica gerando nanomateriais e dispositivos, como sistemas para liberação controlada, diagnósticos, imageamentos e biosensores.

NANOMEDICINA

- Módulos submicrométricos usados no tratamento, diagnóstico, monitoramento e controle de sistemas biológicos

Porque Nano nas Ciências da Vida?

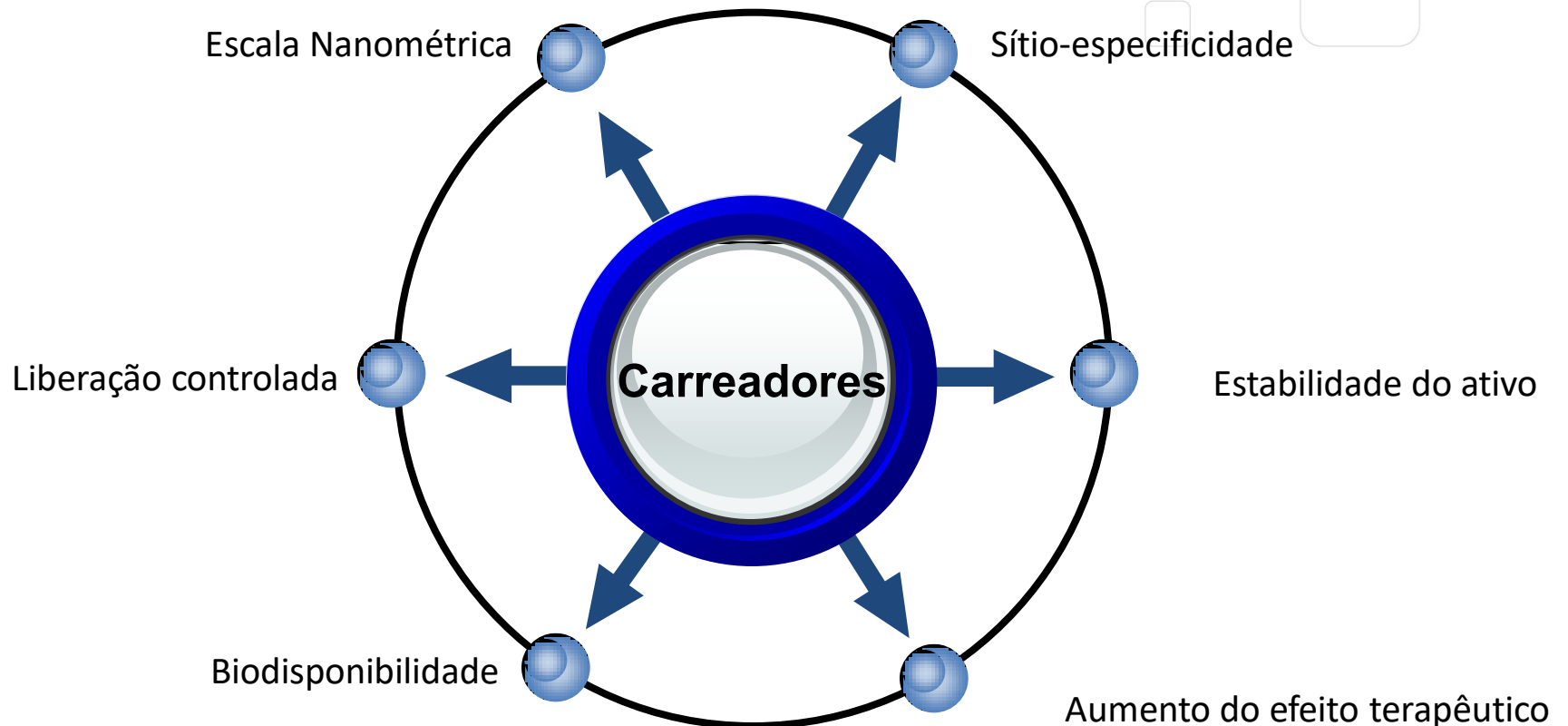


Hemoglobina: tamanho: 5,5 nm

Fonte:

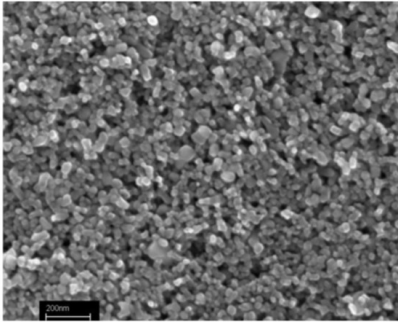
Dr. N. K. Jain: <http://nsdl.niscair.res.in/jspui/bitstream/123456789/748/1/revised%20Pharmaceutical%20Nanotech.pdf>
<http://www.nano.gov/nanotech-101/special>

Porque Nano na área farmacêutica?



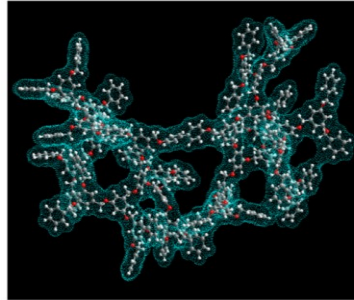
Quais os tipos de Nano?

Nanopartículas cerâmicas

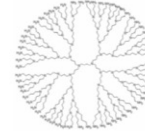


Titanium dioxide nanoparticles can be used for a variety of application

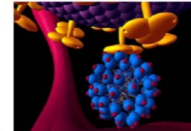
Dendrímeros



Computer rendering of a dendrimer

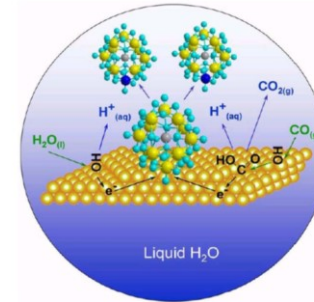


Chemical structure of a dendrimer

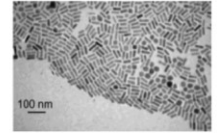


Dendrimers used for medical applications target receptors on cell surfaces

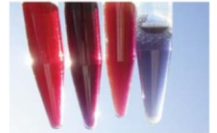
Nanopartículas metálicas



Many metal nanoparticles are used in catalysis



Metal nanoparticles come in a range of shapes

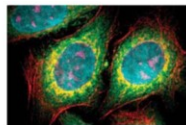


Metal nanoparticles can have different optical properties dependiz on size

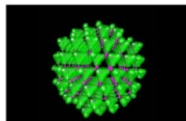
Quantum Dotz



Range of quantum dots in different colors from Evkident Technologies

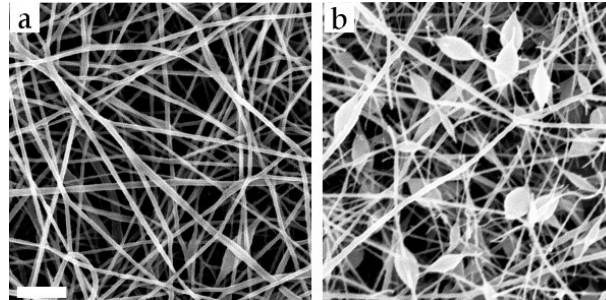


Quantum dots used to visualize cells

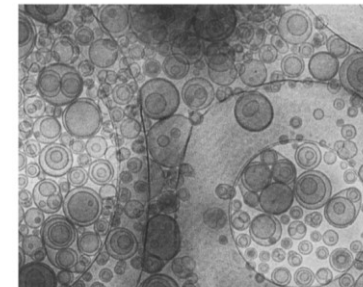


Computer model of a quantum dot

Nanofibras poliméricas



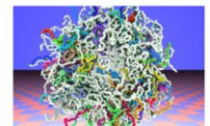
Nanoencapsulados



Electron microscope image of liposomes



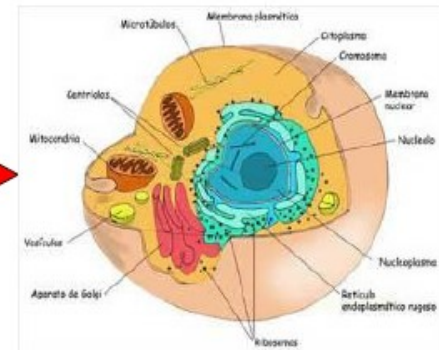
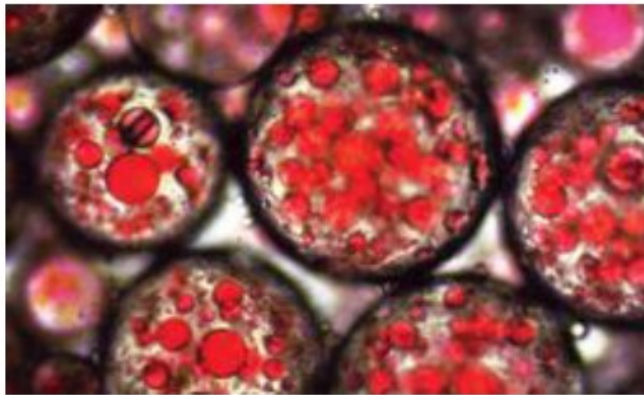
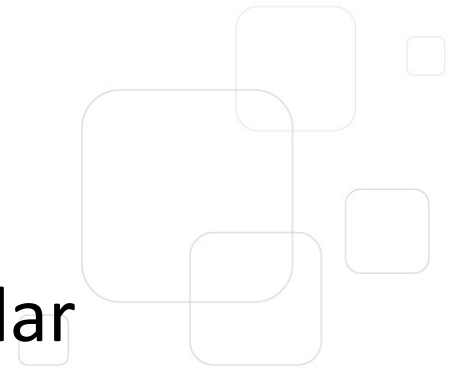
Nanoencapsulation can be used for food ingredients



Computer model of a micelle

Encapsulação

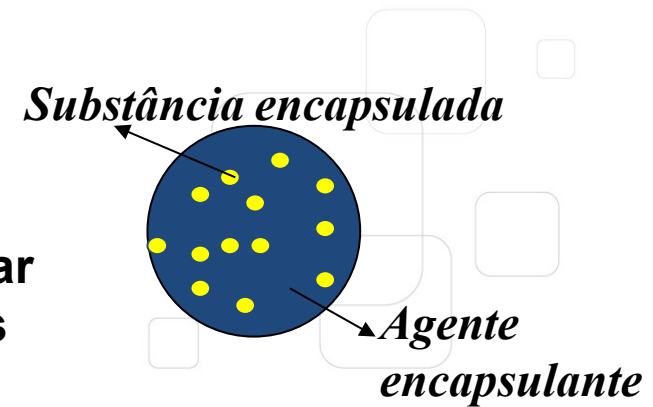
Modelo biomimético: modelo celular



Conceitos básicos

A cobertura ideal (filme ou matriz) deve incorporar novas propriedades ao material encapsulado tais como:

- Facilitar o manuseio (transformação de líquidos em sólidos)
- Reduzir a volatilidade do material e perda para o meio ambiente
- Prevenção contra degradação química ou interação contra outros ingredientes da formulação
- Facilitar a dosagem e a incorporação do componente na formulação
- **Controlar a liberação do material sob estímulos adequados.**



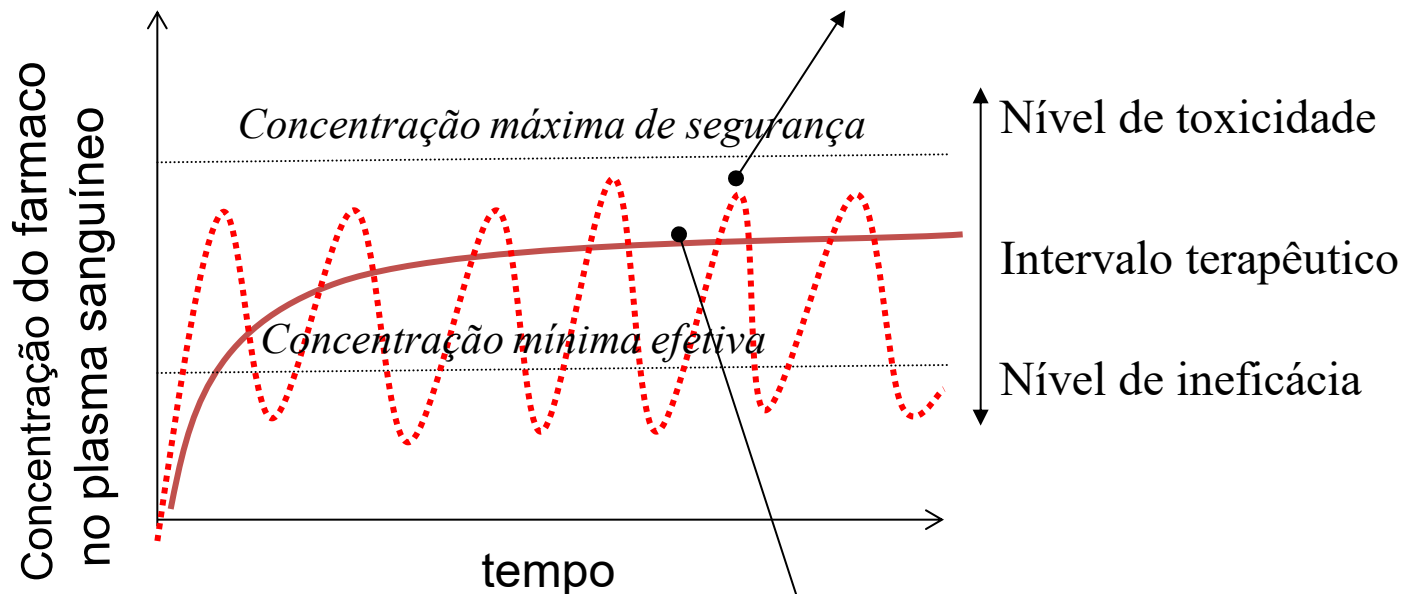
Conceitos básicos

Sistemas de liberação
controlada de fármacos
NANOENCAPSULAÇÃO

Vantagens técnico-econômicas

- redução de efeitos colaterais
- melhor apresentação do fármaco
- facilidade no tratamento
- vantagens econômicas

Doses sucessivas em uma dosagem convencional



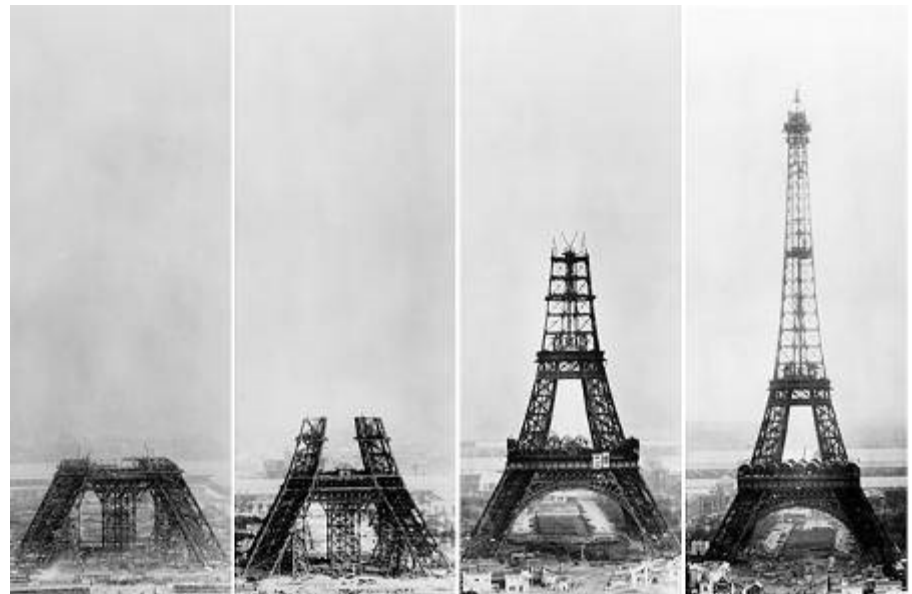
Dosagem em liberação controlada

Como Fazemos Nano?

Cima Para Baixo
“Top-down”



Baixo Para Cima
“Botton-up”

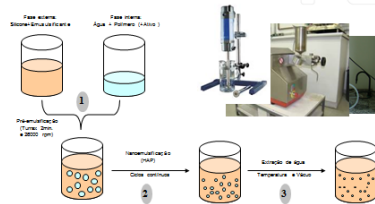


Como Fazemos Nano?

Emulsificação e Difusão de Solvente

Nanocarreadores Poliméricos Coloidais - NPCs

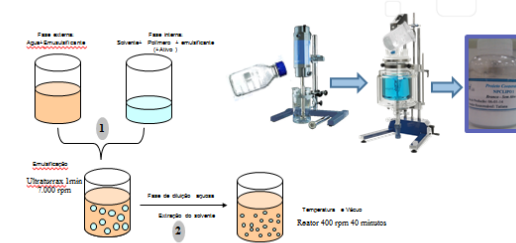
Preparo dos NPC-placebo e NPC contendo ativo



ipt

Emulsificação e Evaporação de Solvente

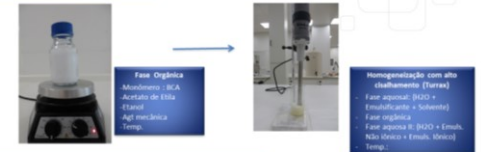
Preparo dos nanoencapsulados poliméricos



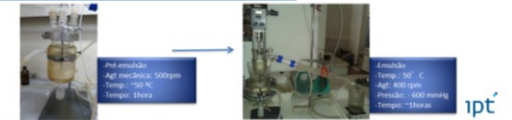
ipt

Polimerização Interfacial

1ª Etapa: Preparo da emulsão

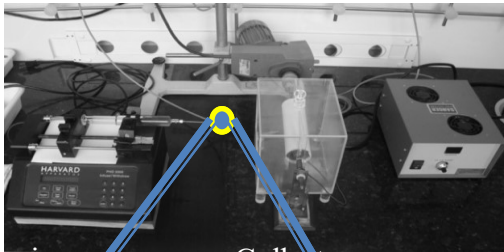


2ª Etapa: Polimerização Interfacial e destilação



ipt

Electrospinning



Electrical field applied

High Voltage Supply

Secagem por Spray-Dryer

PREPARAÇÃO DE NANOENCAPSULADOS

NANOSPRAY-DRYER



POSSIBILIDADES

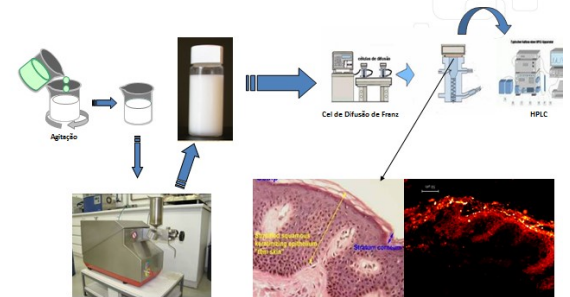
- Produção de nanopartículas
- Recuperação superior a 90%
- Processamento de mL
- Amostras de 100mg

ipt

Homogeneização de Alta Pressão

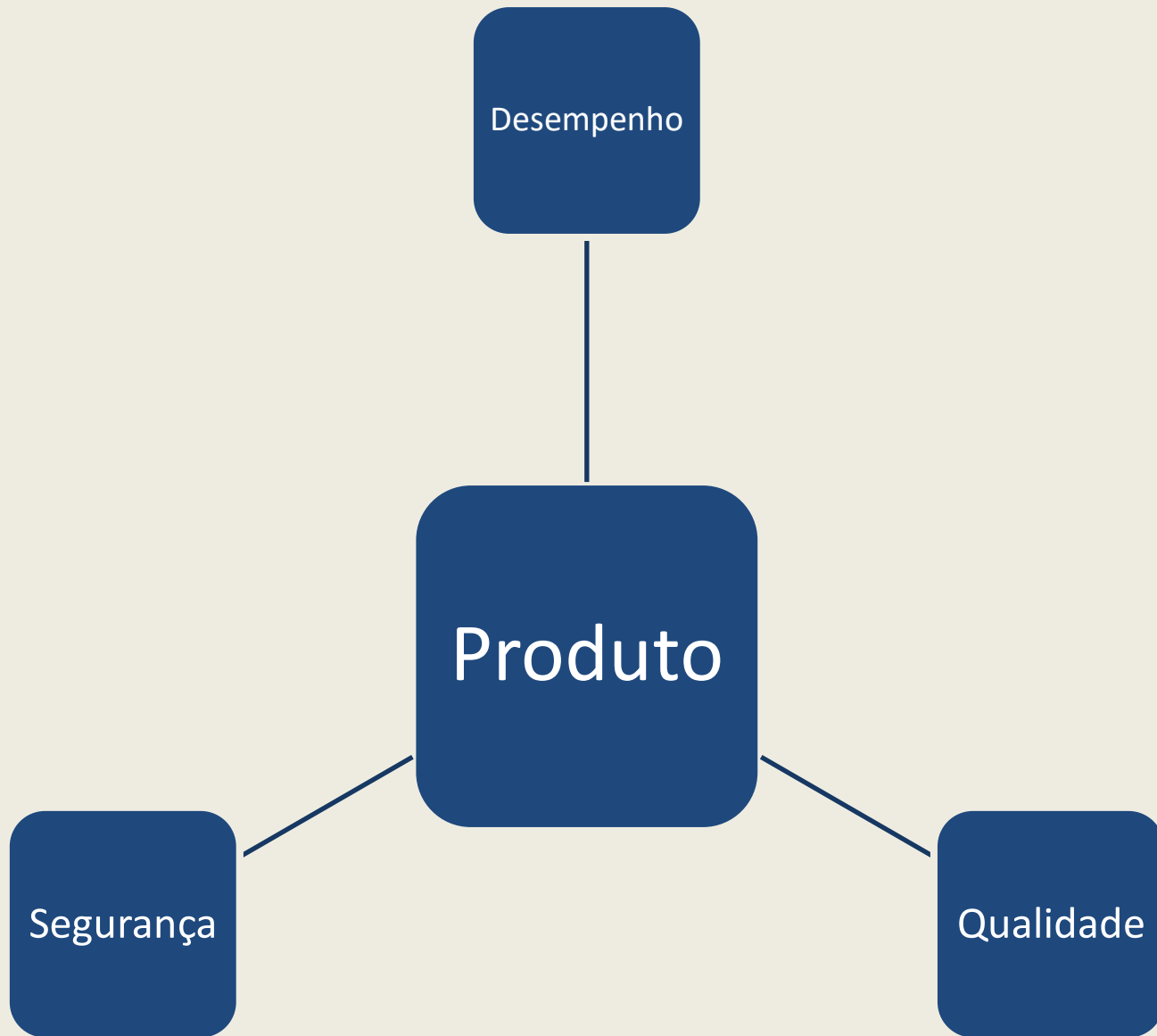
NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS

Obtenção de nanopartículas contendo agente de proteção solar.



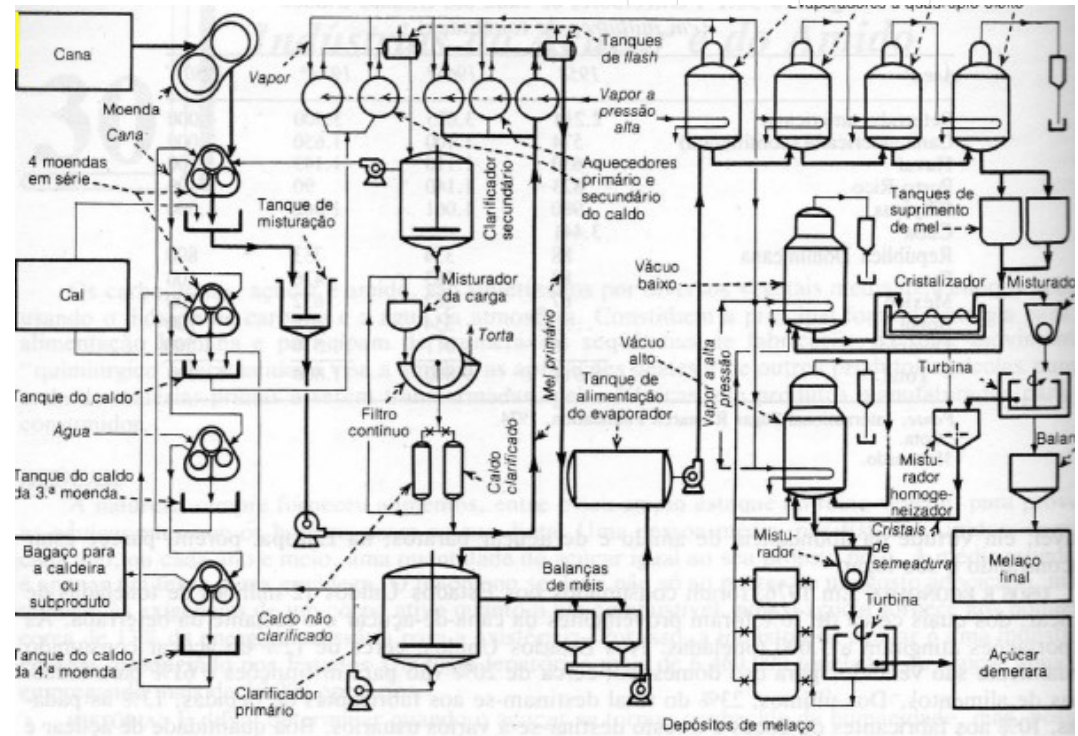
ipt

ipt



Operações Unitárias dos Processos de Interesse

- ✓ Bombeamento de Líquidos
- ✓ Troca de Calor
- ✓ Transporte de Sólidos
- ✓ Redução de Tamanho
- ✓ Peneiração
- ✓ Filtração
- ✓ Mistura
- ✓ Destilação
- ✓ Evaporação
- ✓ Absorção de Gás
- ✓ Extração
- ✓ Processos de Separação
- ✓ Secagem



Operações Unitárias dos Processos Interesse

Tanques de Apoio

Função: Preparo de Fase Orgânica ou Fase

Controles:

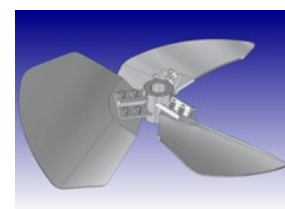
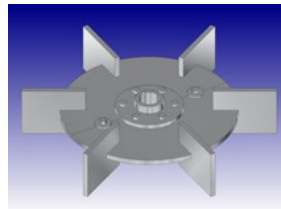
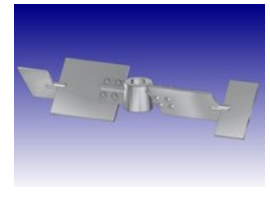
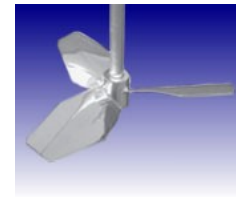
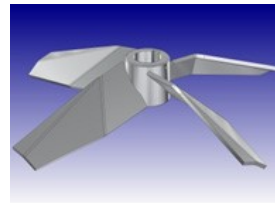
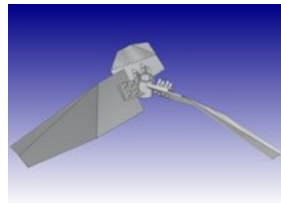
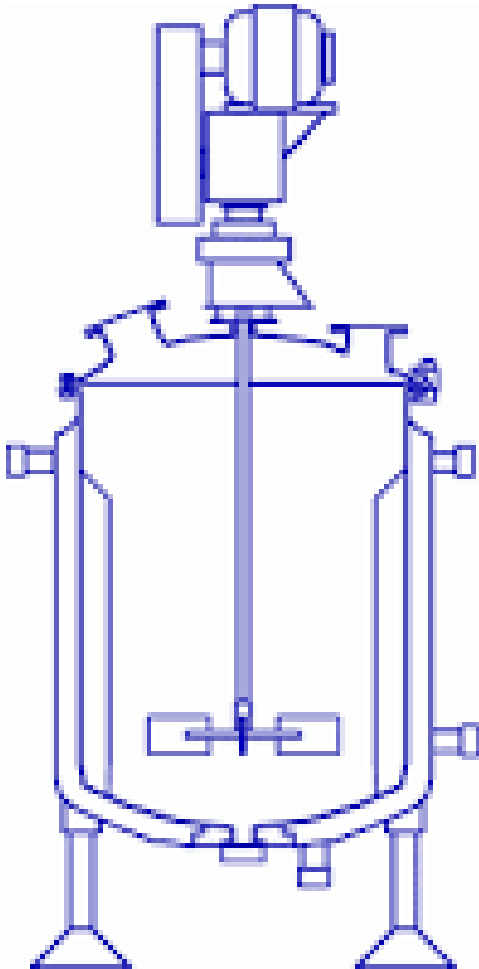
Operação com Solventes Orgânicos

Temperatura: 50 a 70° C

Água/Vapor/Óleo/Elétrico

Agitação Mecânica

Impelidores Metálicos ou Revestidos Polimero



Fonte: internet

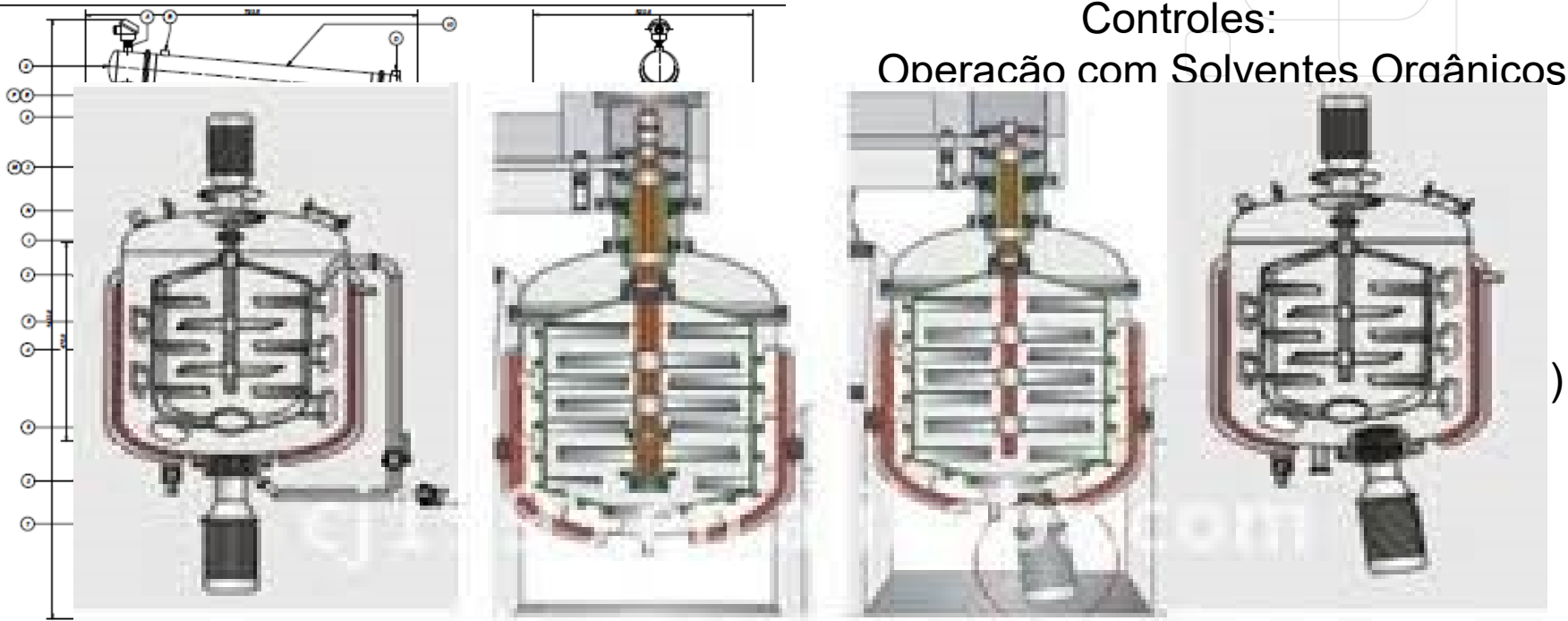
Operações Unitárias dos Processos Interesse

Reator Principal

Função: Preparo do Nanoencapsulado

Controles:

Operação com Solventes Orgânicos

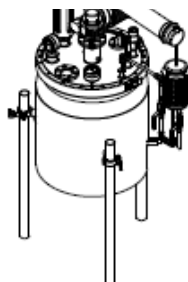
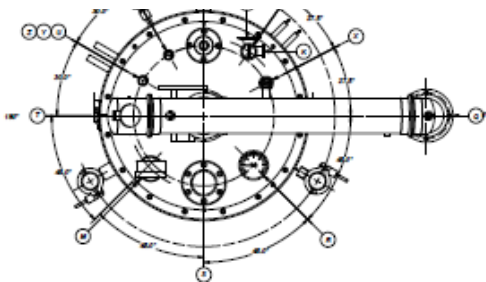


XJR/P

XRKA

XRK

XR



Borbulhamento de N_2

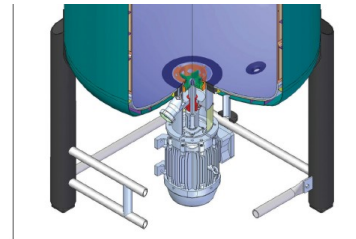
Agitação Mecânica
Impelidores Metálicos ou RPT

Fonte: internet



Operações Unitárias dos Processos Interesse

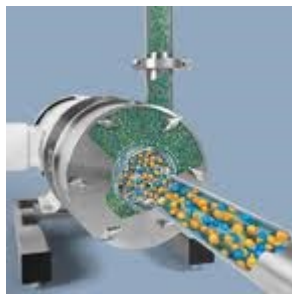
Dispersores de Alta Energia



MISTURADOR EMULSIFICADOR PARA FUNDO DE TANQUE

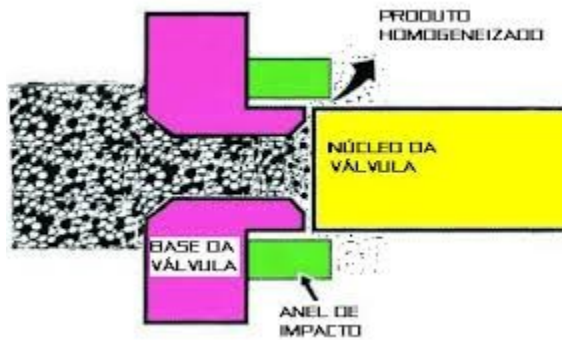
Rotação (rpm)	-	3600	3600	3600	3600	1800	1200	1200	1200
Comprimento Livre (mm)	-	584	787	1057	1321	1372	1638	1994	2610
Peso Aprox. (kg)	-	74	131	300	539	940	1105	1470	1710

Volume Operacional		100	101	105	110	125	130	150	175	1100
Água (litros)										
De		0.5	15	55	95	150	150	950	1500	1900
Até		10	120	200	1000	2000	3000	6000	8500	22500



Operações Unitárias dos Processos Interesse

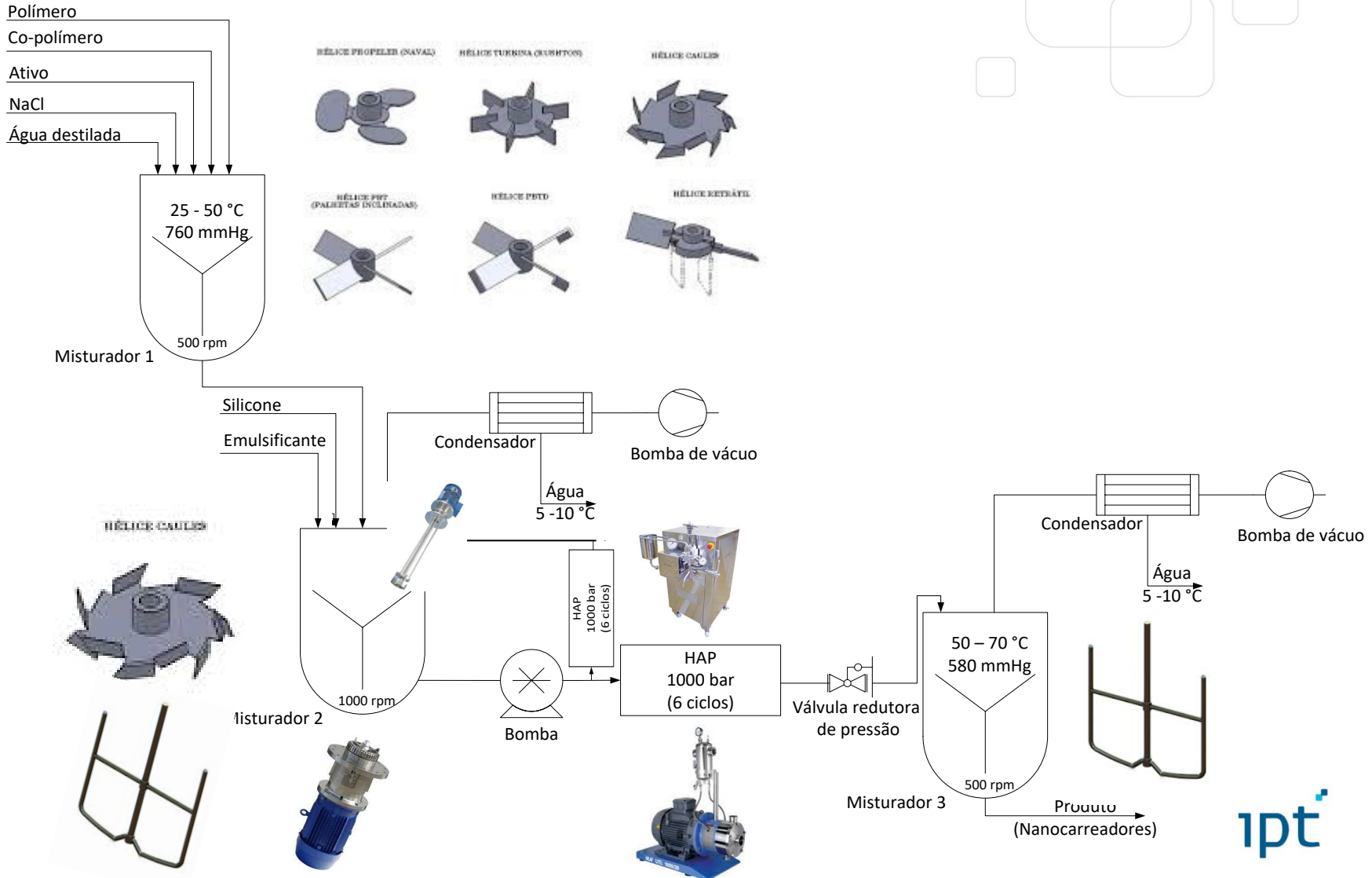
Homogeneizadores de Alta Pressão



Capacidades de até 30.000 L/h

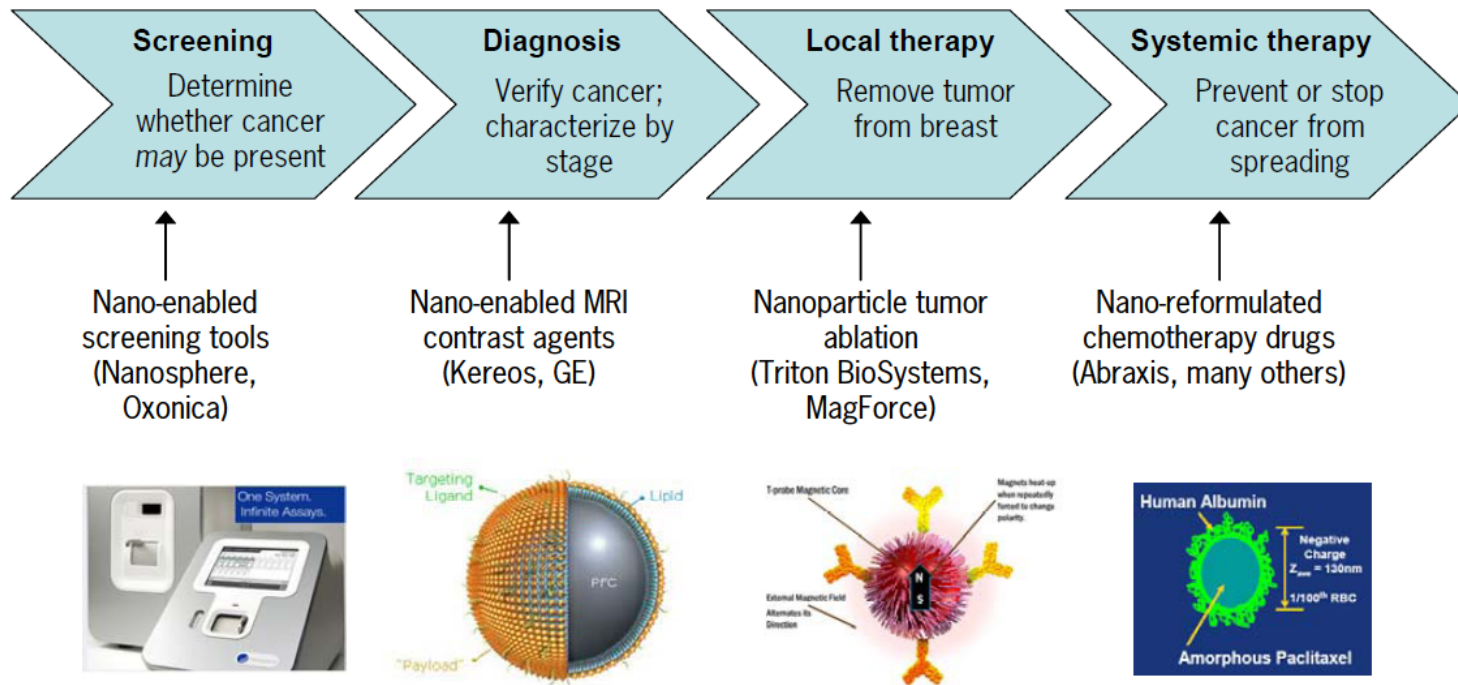
Fluxograma de processo

Emulsificação e Evaporação de Solvente



Exemplos no mercado

Examples of nanotech innovations in cancer treatment



Estimated Commercialization Timeline For Select Nanotechnology Drug Delivery Applications

Total: 56

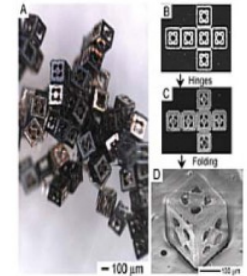
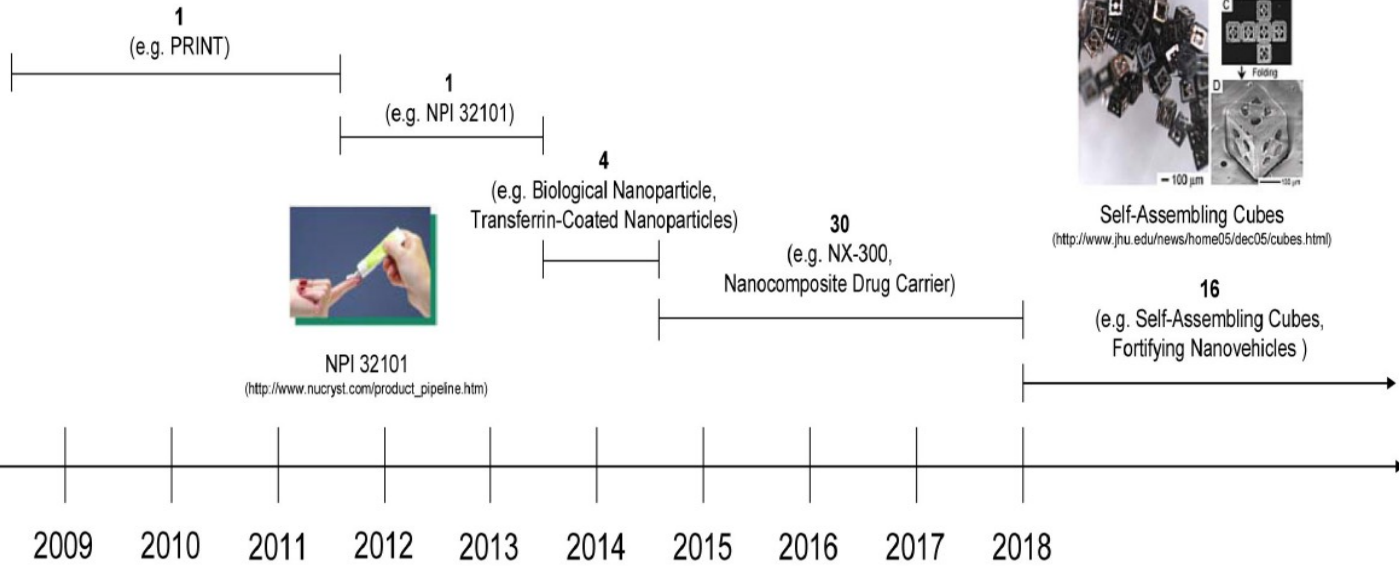
(Source: 2006 *Nanomedicine, Device & Diagnostics Report*, NanoBiotech News, www.nanobiotechnews.com)

4
e.g. Nanocrystals used in Rapamune, Emend, TriCor, and Megace ES



Emend

<http://www.prestonhunt.com/hd/pics/59%20Emend.jpg>



Self-Assembling Cubes

(<http://www.jhu.edu/news/home05/dec05/cubes.html>)

16
(e.g. Self-Assembling Cubes, Fortifying Nanovehicles)

2005 2006 2007 2008 2009 2010 2011 2012 2013 2014 2015 2016 2017 2018

Commercially Available

Phase III Clinical Testing
(2.5 – 5.5 years to market)

Phase IIa
Clinical Testing
(6 - 7.5 years to market)

Preclinical Testing
(8.5 - 12 years to market)

FDA Review/Process
(0 – 2.5 years to market)

Phase IIb
Clinical Testing
(5.5 - 7 years to market)

Phase I
Clinical Testing
(7.5 - 8.5 years to market)

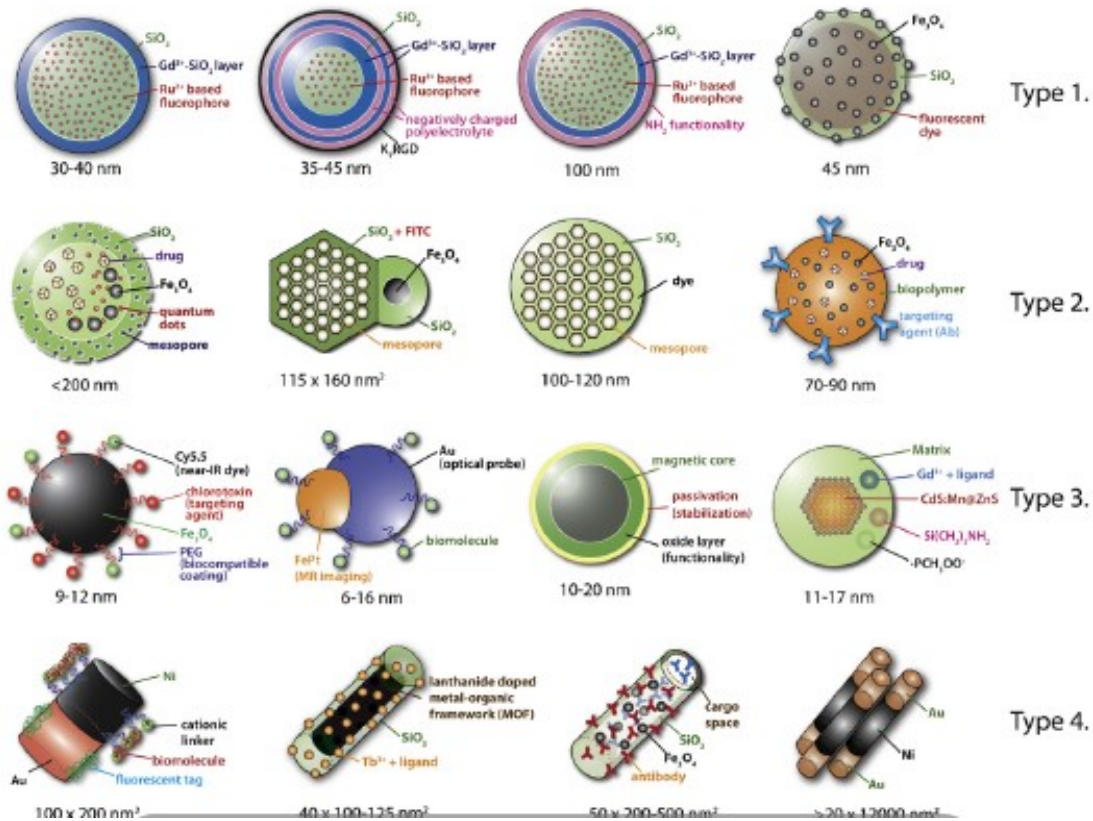
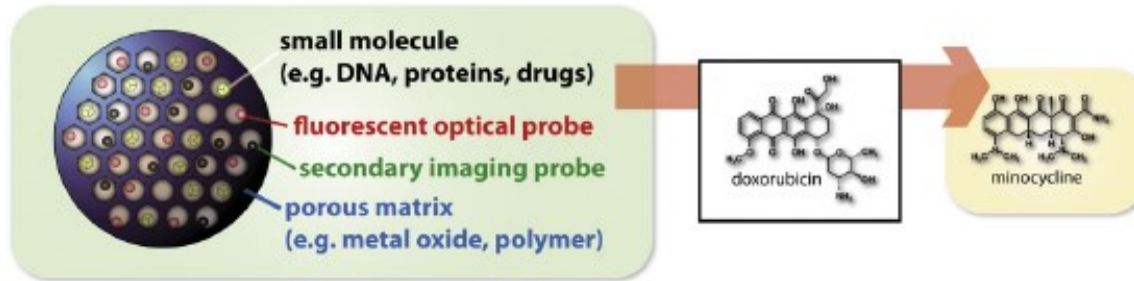
Early Stage Development
(> 12 years to market)

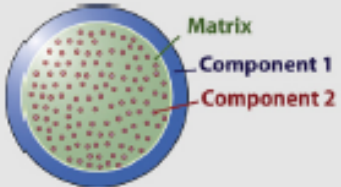
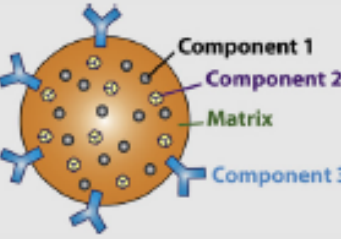
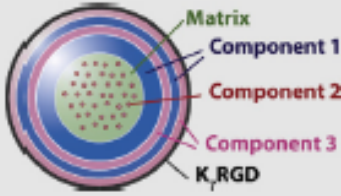

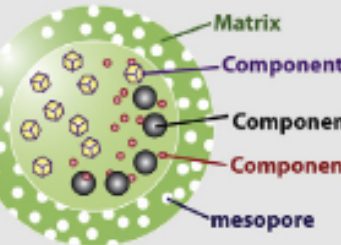
Nanomedicamento	Fármaco/carreador	Via de administração	Empresa	Indicação	Ano
Abelcet	Anfotericina B/ complexo lipídico	Injetável	Enzon	Infeções fúngicas	2004
Abraxane	Paclitaxel/nanopartículas de albumina (~130 nm)	i.v.	Abraxis Bio Science AstraZeneca	Câncer de mama metastático	2005
Ambisome	Anfotericina B/lipossomas	Injetável	Gilead (Foster City, CA, USA), Fujisawa (Osaka, Japan)	Infeções fúngicas	1995
Amphotec	Anfotericina B/suspensão coloidal (~115 nm)	Subcutânea	Sequus	Aspergillosis invasiva em pacientes refratários ou intolerantes à anfotericina B convencional	1996
Amphotec	Anfotericina B/dispersão coloidal lipídica	Injetável	InterMune	Infeções fúngicas	2004
DaunoXome	Daunorubicin A/ lipossomas	Injetável	Gilead	Sarcoma de Kaposi	1997
Depocyt	Citarabina/lipossomas	i.v.	SkyePharma (London), Enzon	Cancer	2001
Diprivan	Propofol/lipossomas	i.v.	Zeneca Pharma	Anestésico	1989
Doxil Caelyx (outside the U.S.)	Doxorubicina/lipossomas peguillados	i.v.	OrthoBiotech Schering-Plough	Câncer de ovário metastático; sarcoma de Kaposi	1995
Estrasorb	Estradiol /nanopartículas micelares	Tópico	Novavax	Terapia da menopausa	2004
Macugen	Estradiol/nanopartículas micelares (emulsão)	Transdérmico	Novavax	Redução dos sintomas vasomotores da menopausa	2003
Macugen	Aptamero anti-VEGF PEGuillado	Intravítreal	OSI Pharmaceuticals Pfizer	Neovascularização: degeneração macular relaciona à idade	2004
MegaceES	Acetate de megestero/ nanocristais	Suspensão oral	Elan Drug Delivery, Par Pharmaceutical Companies	Desordens alimentares	2005
Myocet	Doxorubicina/lipossomas	Injetável	Zeneus Pharma	Cancer de mama	2000
Oncaspar	Asparaginase-PEGuillada	Injetável	Enzon	Leucemia	1994
Rapamune	Sirolimus/nanocristais	Comprimidos	Elan Drug Delivery, Wyeth Pharmaceuticals	Imunossupressor	1999
Triglide	Fenofibrato/nanocristais	Comprimidos	SkyePharma, First Horizon Pharmaceuticals	Lipidemias	2005
Visudyne	Verteporfina/lipossomas	Injetável	QLT (Vancouver, Canada), Novartis (Basel)	Degeneração macular relacionada ao envelhecimento	2000
YIPME nano	Stent farmacológico com	Implante	Abbott Vascular	Obstrução coronariana	2011

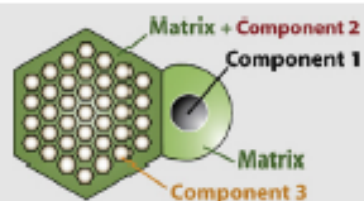


Imagem in vivo			
Resovist	Nanopartículas de ferro	Tumores do fígado	Schering (Berlin)
Feridex/Endorem	Nanopartículas de ferro	Tumores do fígado	Advanced Magnetics (Cambridge, MA, USA), Guerbet (Roissy, France)
Gastromark/Lumirem	Nanopartículas de ferro	Imagens de estruturas abdominais	Advanced Magnetics, Guerbet
Diagnóstico in vitro			
Lateral flow tests	Ouro coloidal	Gravidez, ovulação, HIV	British Biocell (Cardiff, UK), Amersham/GE (Little Chalfont, UK), Nymox (Hasbrouck Heights, NJ, USA)
Clinical cell separation	Nanopartículas magnéticas	Imuno diagnóstico	Dynal/Invitrogen (Oslo, Norway), Miltenyi Biotec (Bergisch Gladbach, Germany), Immunicon (Huntingdon Valley, PA, USA)
Biomateriais			
Ceram X duo	Nanopartículas compósitas	Material de enchimento dentário	Dentsply (Weybridge, UK)
Filtek Supreme	Nanopartículas compósitas	Material de enchimento dentário	3M Espe (Seefeld, Germany)
Mondial	Próteses dentárias contendo nanopartículas	Restauração dentária	Heraeus Kulzer (Hanau, Germany)
Premise	Nanopartículas compósitas	Restauração dentária	Sybron Dental Specialties (Newport Beach, CA, USA)
Tetric EvoCeram	Nanopartículas compósitas	Restauração dentária	Ivoclar Vivadent (Schaan, Liechtenstein)
Ostim	Nano-hidroxiapatita	Reparação de defeitos ósseos	Osartis (Obemburg, Germany)
Perossal	Nano-hidroxiapatita	Reparação de defeitos ósseos	aap Implantate (Berlin)
Vitoss	Nano-hidroxiapatita	Reparação de defeitos ósseos	Orthovita (Malvern, PA, USA)
Acticoat	Nanopartículas de prata	Curativo anti-microbiano	Nucryst (Wakefield, MA, USA)

Tendências: Nanopartículas Multifuncionais



No.	Schematic	Size (nm)	Matrix	Component 1	Component 2	Component 3	Surface chemistry	Application(s)	Reference(s)
1		30-40	SiO ₂	Gd ³⁺ + ligand (MR agent)	[Ru(bipy) ₃] ²⁺ (fluorescent)	N/A	Si-OH	Target-specific contrast agents for optical and MR imaging of rheumatoid arthritis in mice	Rieter et al. (2007a); Kim et al. (2007a)
2		70-90	PLGA	Fe ₃ O ₄ (MR agent)	DOX (drug molecule)	HER (targeting agent)	-OH	Diagnosis of breast cancer; detection and treatment	Yang et al. (2007)
3		35-45	SiO ₂	Gd ³⁺ + ligand (MR agent)	[Ru(bipy) ₃] ²⁺ (fluorescent)	Negatively charged polymer	K ₇ RGD (positively charged oligomer)	Layer-by-layer assembly method to construct multifunctional nanoparticles; cancer cell targeted imaging	Kim et al. (2007a)
4		40 × (short axis) 100-125 (long axis)	SiO ₂	Lanthanide (Eu ³⁺ , Gd ³⁺ , Tb ³⁺) doped metal-organic-framework (MOF)	Tb ³⁺ + ligand	N/A	-OH/-COOH/-NR ₂ / -NHC(O)	Controlled release of small molecules (drug delivery); detection of small molecules; MR imaging	Rieter et al. (2007b); Rieter et al. (2006)
5		<200 nm	SiO ₂	Fe ₃ O ₄ (MR agent)	CdSe/ZnS (fluorescent)	Ibuprofen (drug molecule)	Si-OH	Drug delivery; magnetic susceptibility measurement; fluorescence imaging	Kim et al. (2006b)



115 × (short axis)
160 (long axis)

SiO₂

Fe₃O₄ (MR agent)

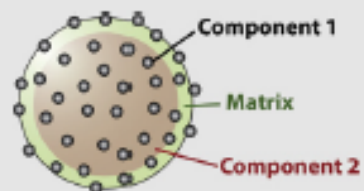
FITC (fluorescent)

Mesopore

-OH

Cell tracking and drug delivery

lin et al. (2006c)



45

SiO₂

Fe₃O₄ (MR agent)

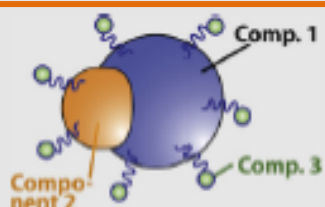
Fluorescent

N/A

-NH₂/-SH/-OH

Imaging neuroblastoma

lee et al. (2006b)



Comp. 1 = 10,
Comp. 2 = 6

N/A

Au (optical probe)

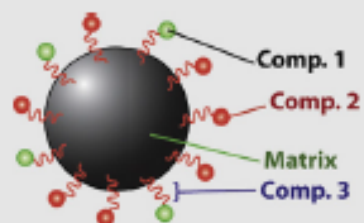
FePt (MR imaging)

Biomolecule (targeting; e.g. antibody)

N/A

Biochip sensing; molecular MR imaging of cancer cells

Choi et al. 2006



9-12

Fe₃O₄

Cy5.5 (near-IR fluorescent)

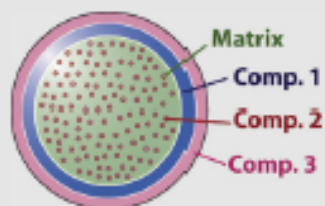
Chlorotoxin (targeting agent)

PEG (biocompatible stealth coat)

Biomolecules

MR imaging and fluorescence microscopy on rat glioma (brain tumor) cell and rat cardiomyocytes

Veisoh et al. (2005)



100

SiO₂

Gd³⁺ + ligand (MR agent)

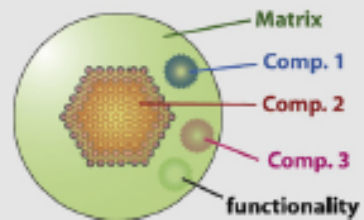
[Ru(bipy)₃]²⁺ (fluorescent)

Si(CH₃)₃NH₂ (for bioconjugation)

-NH₂/-PCH₂OO⁻

MR and fluorescence imaging possible; radio-opaque (via X-ray fluoroscopy)

Santra et al. (2005a,b)



11-17, QD = 3

SiO₂

Gd³⁺ + ligand (MR agent)

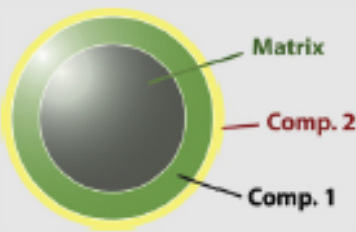
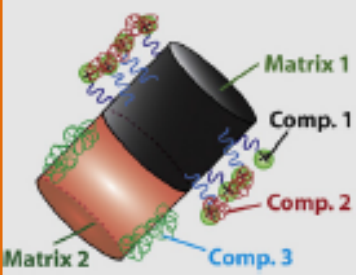
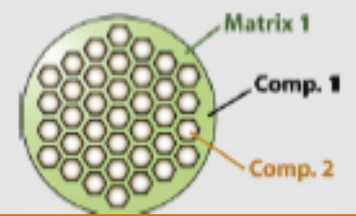
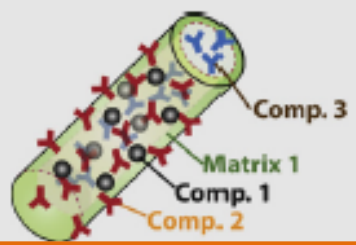
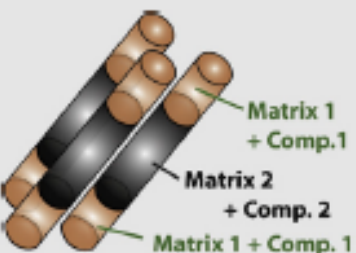
Gd:S:Mn@ZrS (fluorescent)

Si(CH₃)₃NH₂ (for bioconjugation)

-NH₂/-PCH₂OO⁻

MR and fluorescence imaging possible; TAT peptide conjugation and rat brain labeling studies

Yang et al. 2006a; Santra et al., 2005

Schematic	Size (nm)	Matrix	Component 1	Component 2	Component 3	Surface chemistry	Application(s)	Reference(s)
 <p>Matrix Comp. 2 Comp. 1</p>	10–20 nm	Magnetic core (magnetic attraction)	Oxide layer (functionalization)	Ligand or functionality to bind His (stabilization)	N/A	Stabilizing agent/ bound functional group/unbound -OH	Magnetic separation of Histidine modified biomolecules such as proteins from cell lysates	Lee et al. (2006a); Xu et al. (2004)
 <p>Matrix 1 Comp. 1 Comp. 2 Matrix 2 Comp. 3</p>	100 (diameter) × 200 (two 100 nm segments)	Matrix 1 = Ni Matrix 2 = Au	Cationic linker (to harness negatively charged biomolecules)	Biomolecule (e.g. negatively charged plasmid; to bind with cationic linker)	Fluorescent tagged biomolecule with thiol functionality (to bind with Au)	Attached biomolecule	<i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> gene delivery in mammalian systems	Salem et al. (2003)
 <p>Matrix 1 Comp. 1 Comp. 2</p>	100–120	SiO ₂	Rhodamine (fluorescent)	Mesopore	N/A	(+) and (-) examples	Differentiation of human mesenchymal stem cells or cancer drug delivery	Chung et al. (2007); Lu et al. (2007b)
 <p>Comp. 3 Matrix 1 Comp. 1 Comp. 2</p>	50 (diameter) × 200–500 or longer (length)	SiO ₂	Fe ₃ O ₄ (MR agent)	Antibody (bioconjugation)	Cargo space or Ab	Biomolecules + -OH/hydrophobic interior	Biodetection and controlled release of small molecules	Son et al. (2006)
 <p>Matrix 1 + Comp. 1 Matrix 2 + Comp. 2 Matrix 1 + Comp. 1</p>	>20 nm (diameter) × 12 μm (length)	Matrix 1 = Au Matrix 2 = Ni	Au (protecting group; functionality via thiol chemistry)	Ni (magnetic domain; His-tag binding domain)	N/A	PEG (thiol linked molecules)	Magnetic separation of histidine tagged biomolecules	Lee et al. (2004b)



Plataformas tecnológicas de nanoencapsulação

Processos de produção das nanoestruturas

Polimerização em emulsão

Produção de agente de proteção solar nanoestruturado

Associação de mecanismos UVA and UVB proteção na mesma estrutura nanométrica.

Processo de polimerização

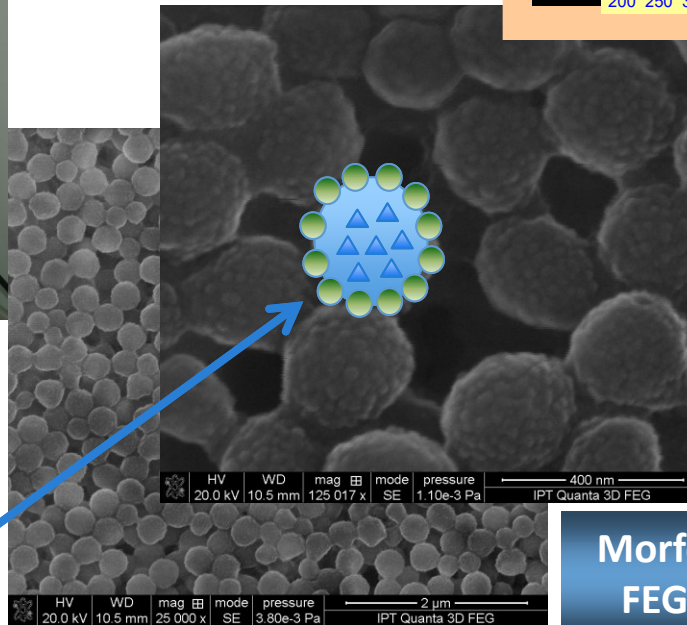
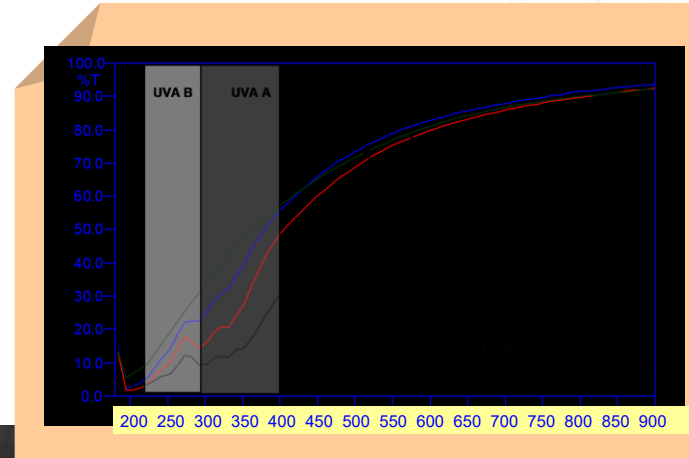
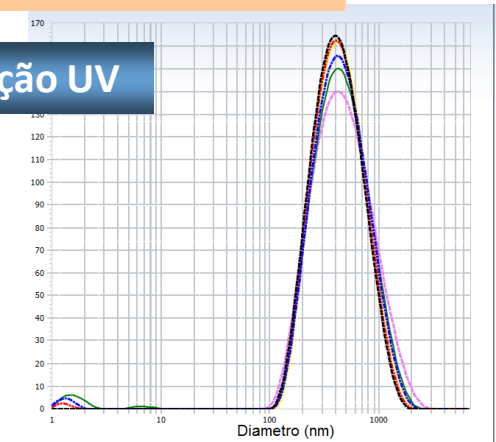


Ilustração esquemática
"Core-Shell" do agente
nanoestruturado

Morfologia:
FEG-SEM

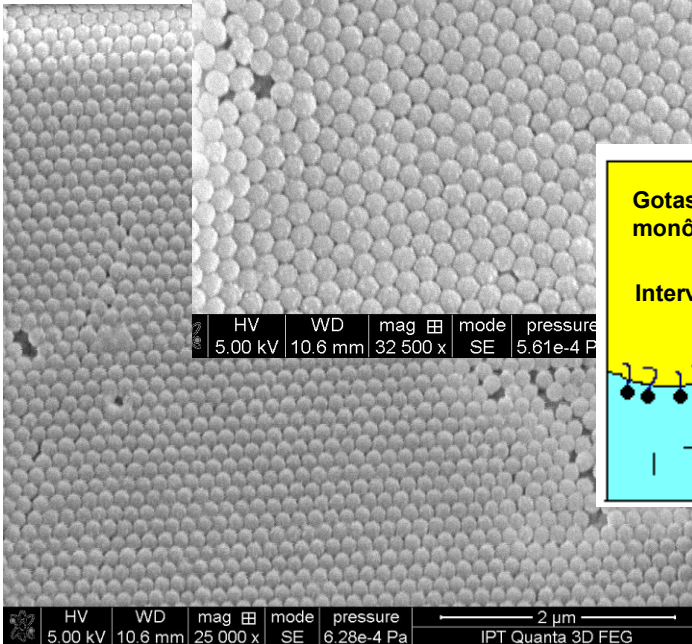
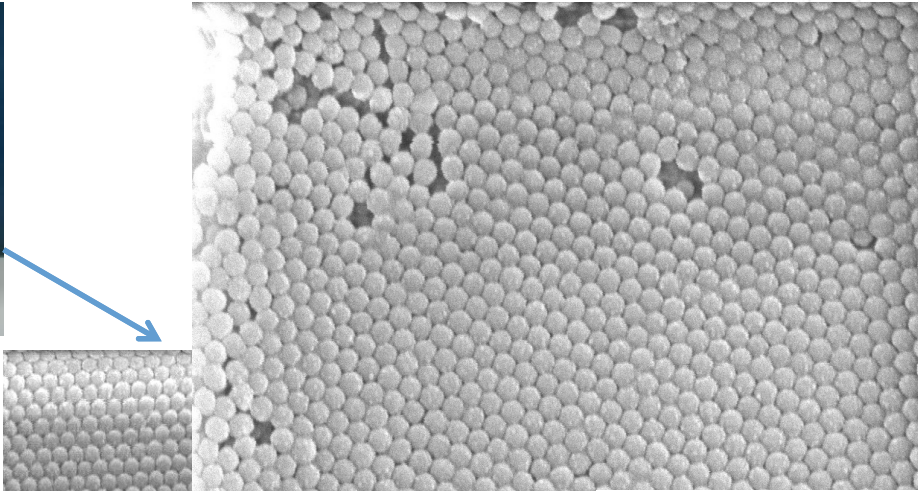
Absorção UV



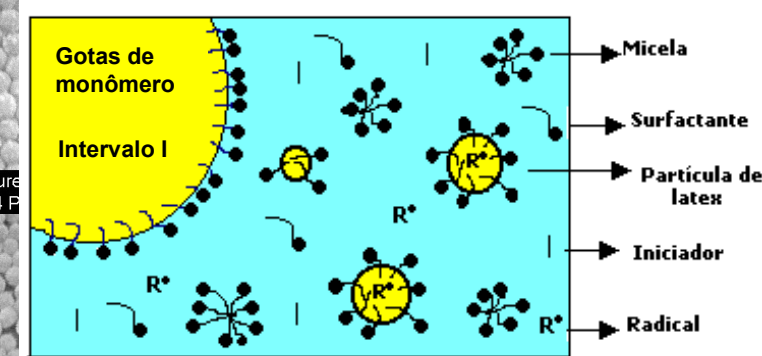
Distribuição de
tamanho: DLS

Polimerização em emulsão

Processo de polimerização em emulsão **sem o emprego de emulsificantes convencionais**. Conceito de *pickering emulsion* aplicado a polimerização em emulsão.

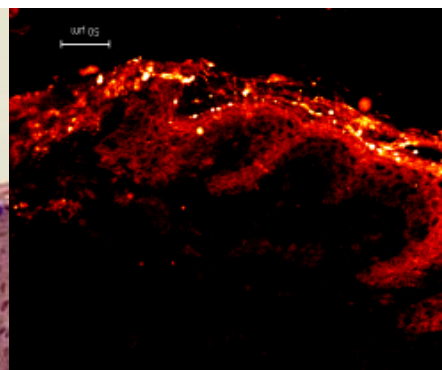
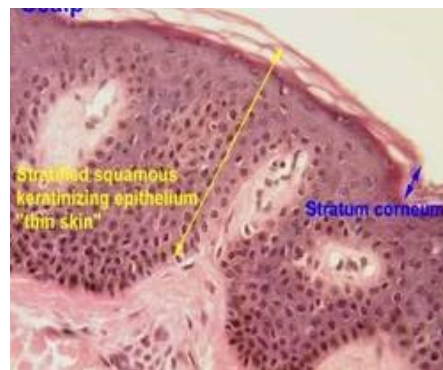
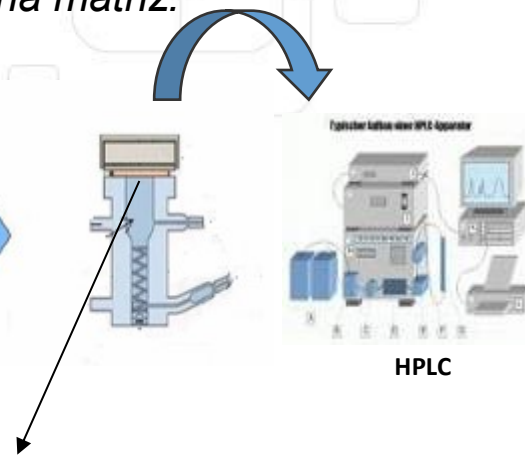
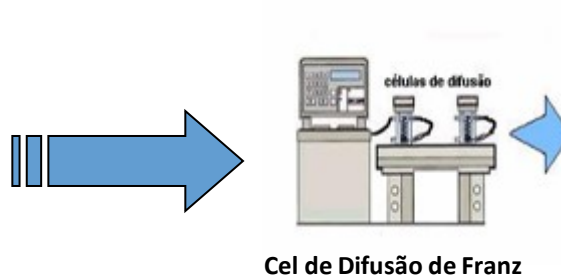
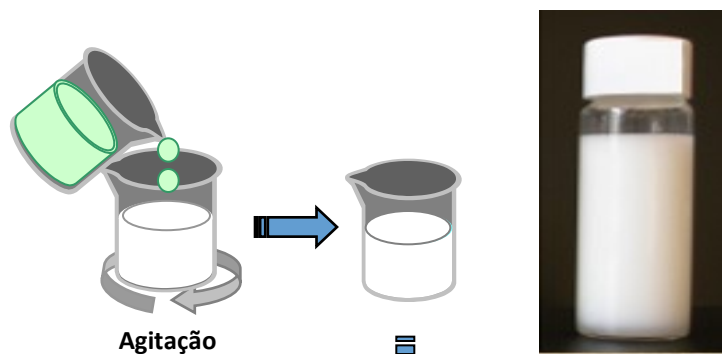


Reator de Bancada



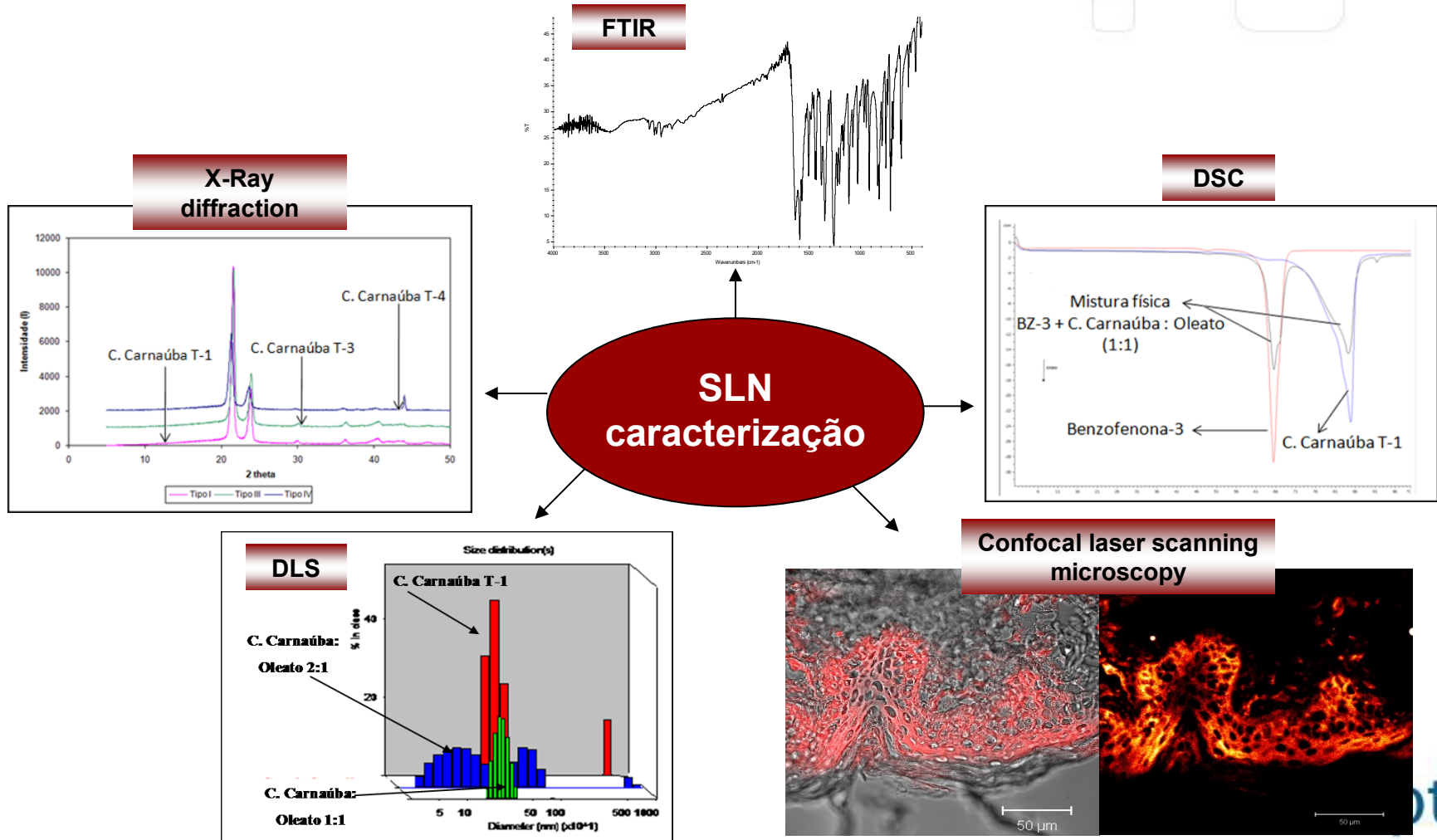
Nanopartículas Lipídicas Sólidas

Obtenção de nanopartículas lipídicas empregando cera de carnaúba contendo agente de proteção solar. Possibilidade de combinação de diferentes lipídeos na matriz.



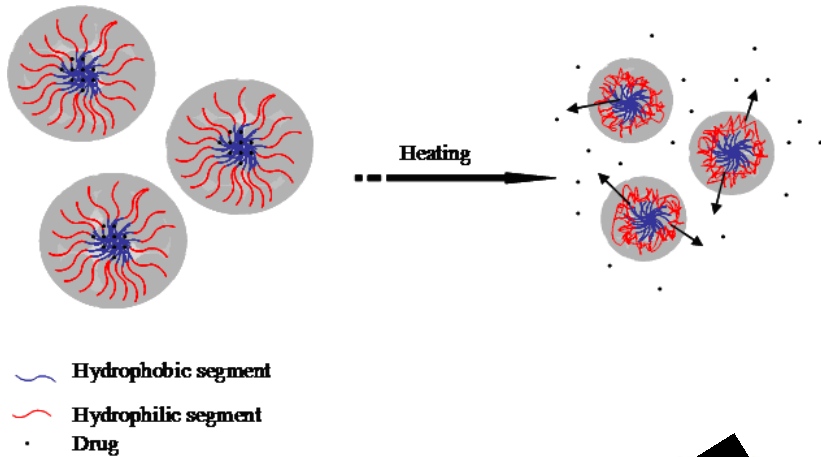
Nanopartículas lipídicas sólidas

Produção de SLN usando cera de carnaúba e ingredientes lipídicos para encapsulação de filtro solar. Técnicas complementares de caracterização para avaliação da nanoestrutura.



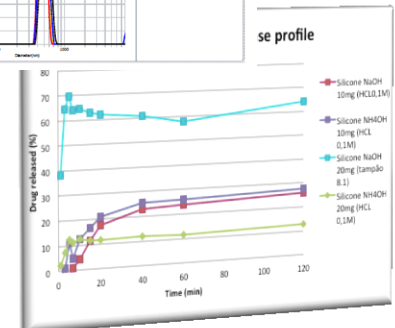
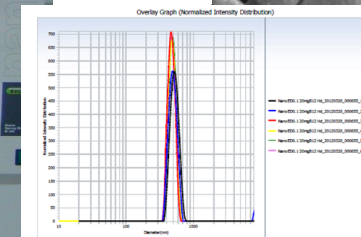
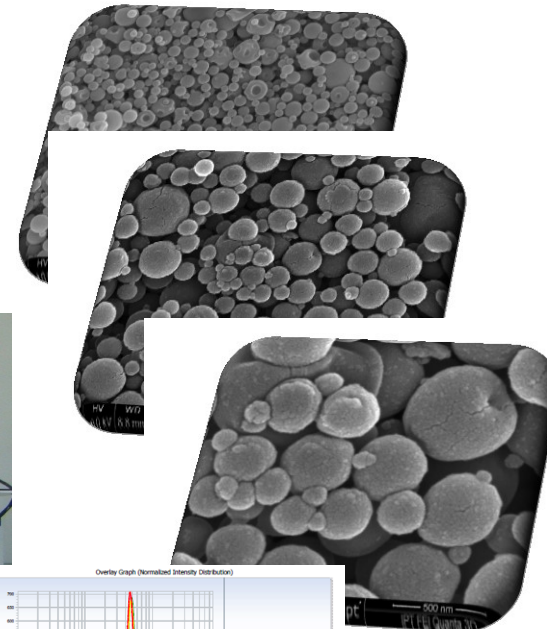
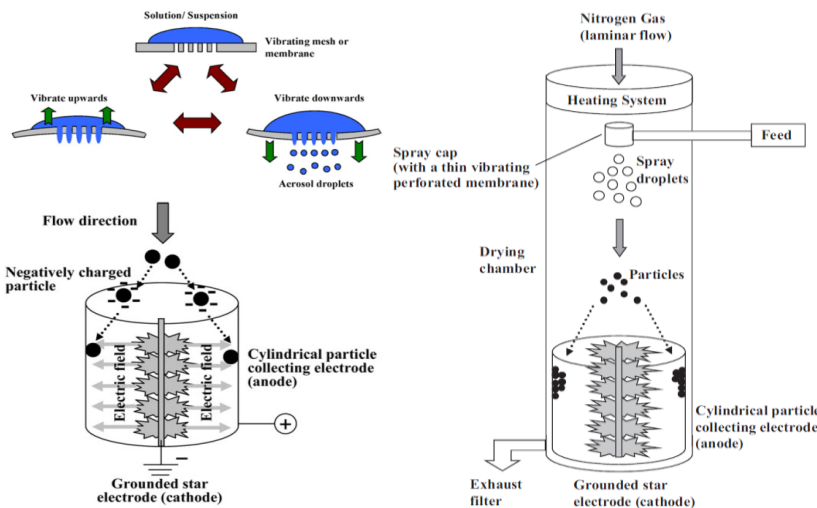
Emulsificação/Difusão de solvente

Obtenção de nanopartículas termossensíveis para veiculação de anti-inflamatório (dexametasona) com perfil de liberação controlado em função da temperatura.



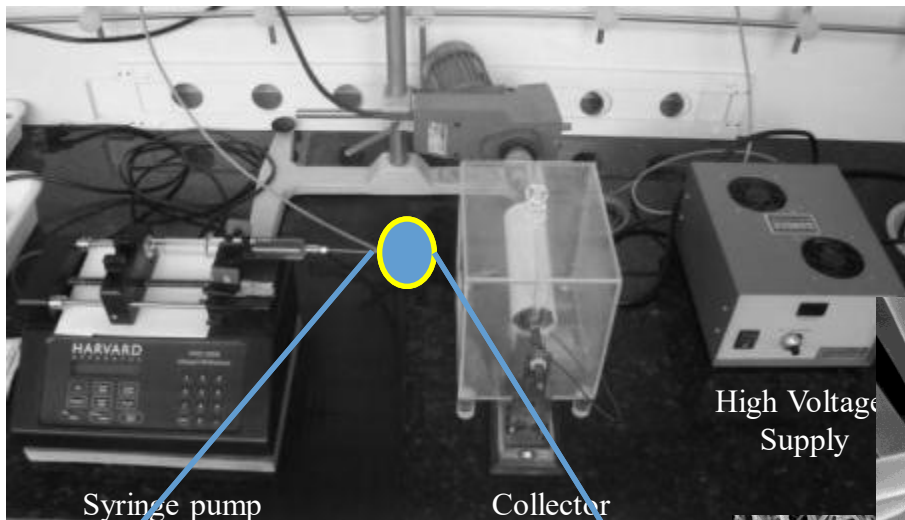
Smart nanoparticles contendo Zidovudina por Nanospray Dryer

Desenvolvimento de pH-sensitive Zidovudine-loaded nanoparticles como sistemas de liberação controlada reduzindo a degradação em meios ácidos como fluido digestivo usando polímeros de silicone.

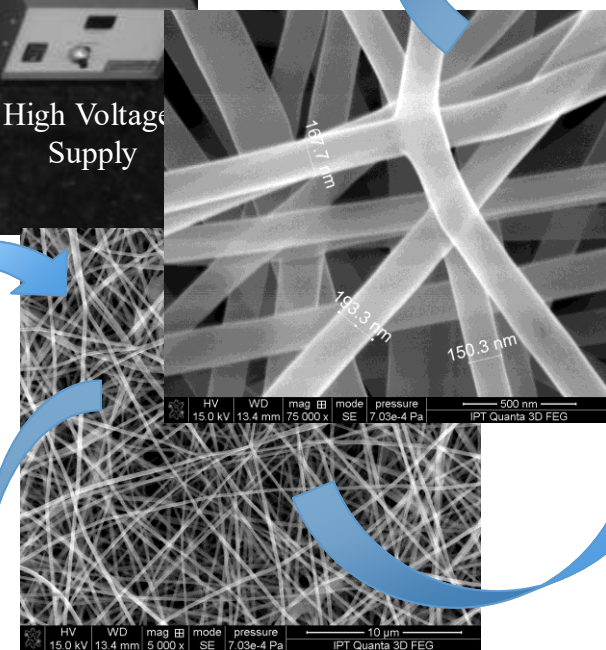


Produção de nanofibras poliméricas por eletrospinning

Ilustração de um sistema monoaxial de electrospinning



Aplicações:
Filtração seletiva
Superfícies funcionalizadas



Nanofibras

$$\downarrow D_{\text{fiber}} \propto \frac{\text{Area}}{\text{Volume}} \uparrow$$

Aplicação odontológica



Mucosa bucal

Blenda polimerica
(Eudragit, PVP)

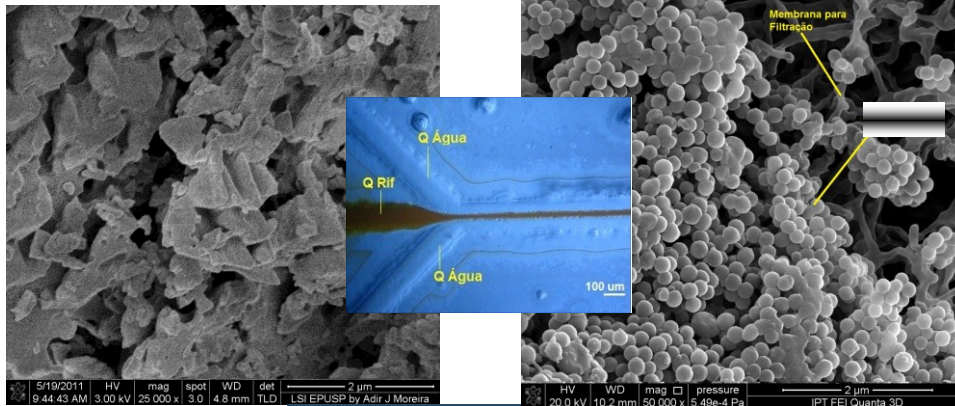
Aplicação cosmética
Celulite



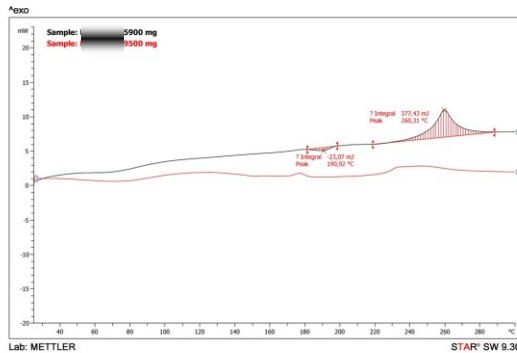
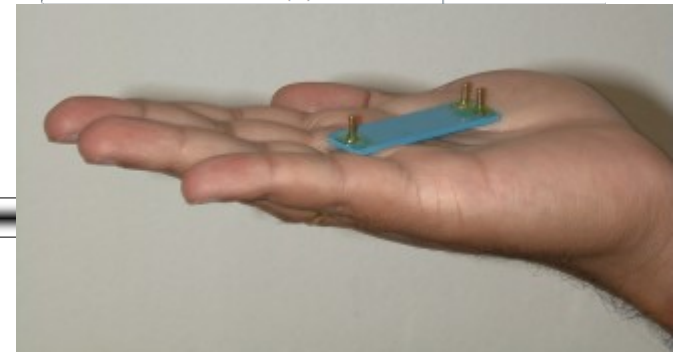
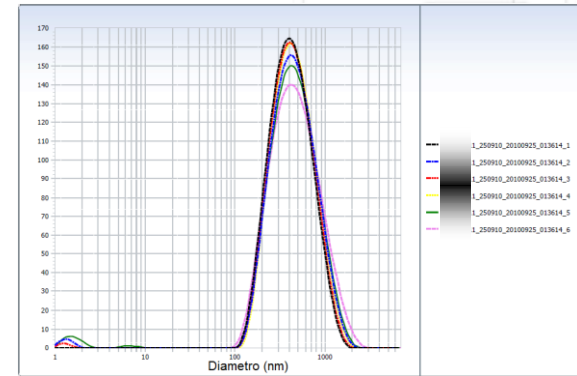
Administração
Tópica

Nanocrystalização por dispositivos microfluidicos

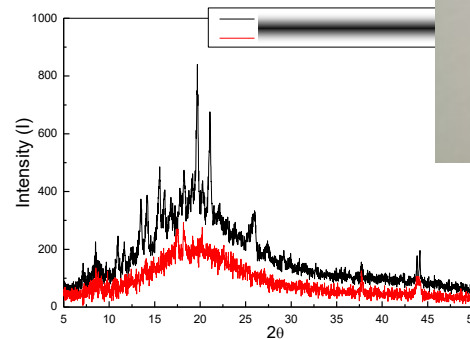
Técnicas complementares de caracterização para avaliação da nanoestrutura. Avaliação da biodisponibilidade do fármaco encapsulado.



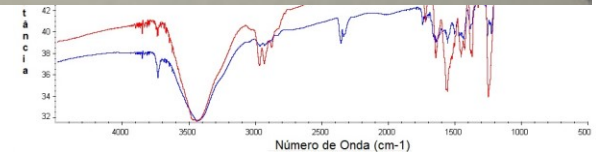
FEG-SEM



DSC

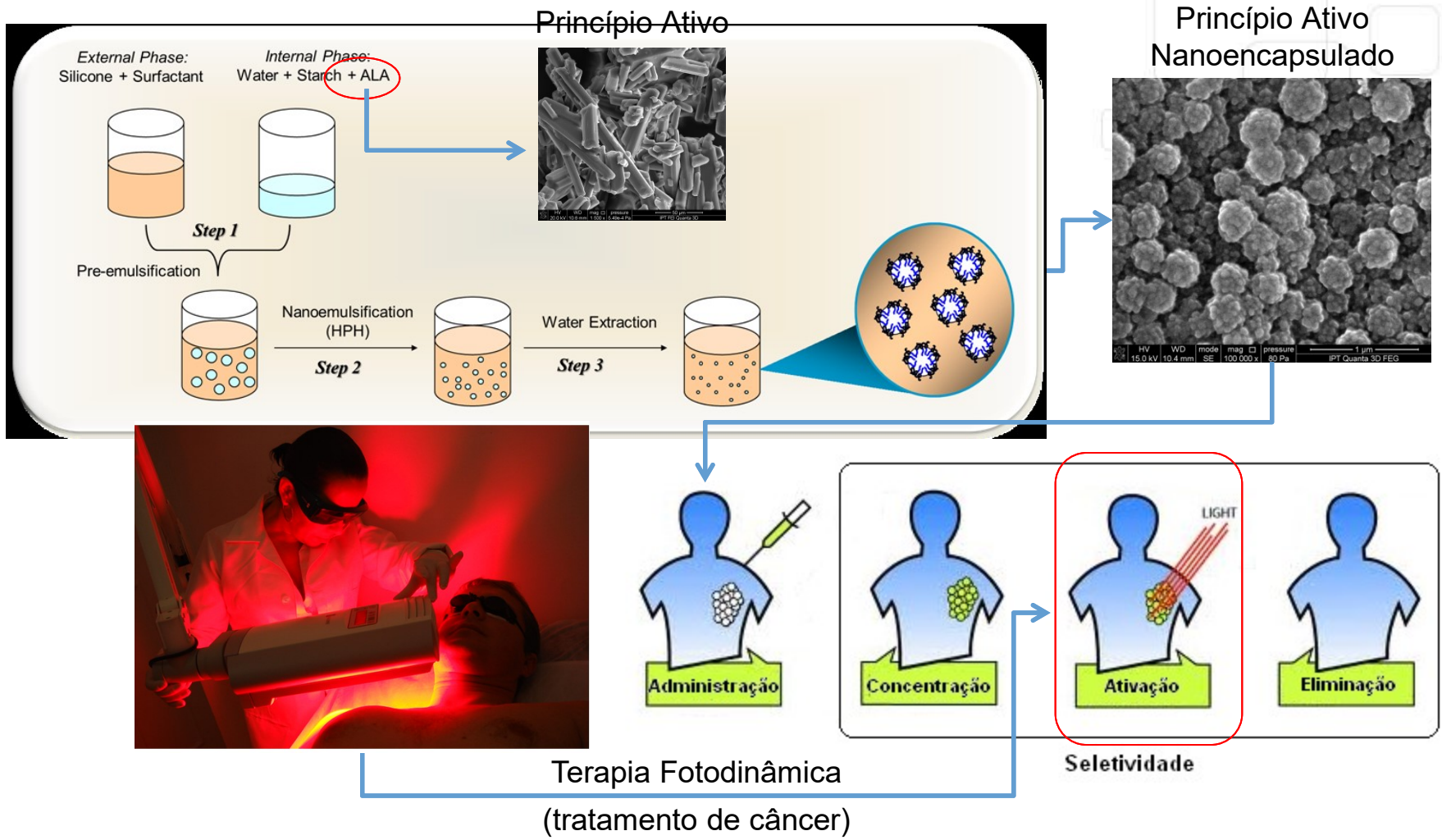


Difração Raio-x



FTIR

Nanocarreadores Poliméricos Coloidais - NPCCs



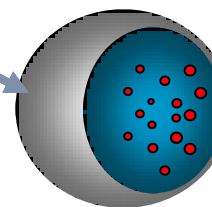
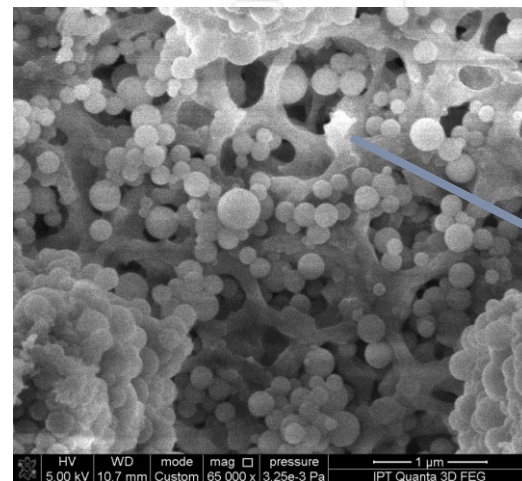
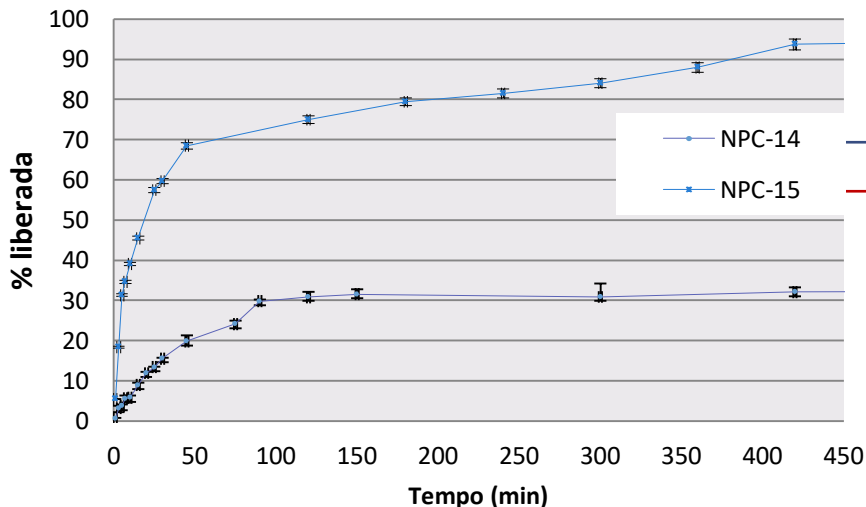
Capacitação IPT: Desenvolvimento de **processos** (rotas) para **encapsulação** de agentes ativos.

Eficiência de encapsulação e Perfil de liberação

Desenvolvimento de metodologia de extração do ativo da matriz polimérica.
Desenvolvimento das metodologias de quantificação e padronização do ensaio de liberação *in vitro*.

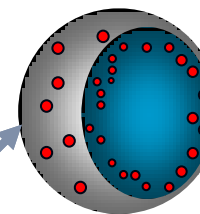
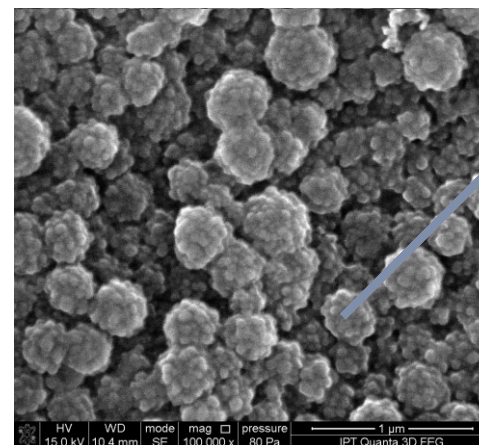
Amostra	Polímero	Ativo modelo	EE (%)
NPC-12	PVP	SS	84,60
NPC-14	Amido	Cianocobalamina	88,68
NPC-15	Amido	SS	93,70

Perfil de liberação



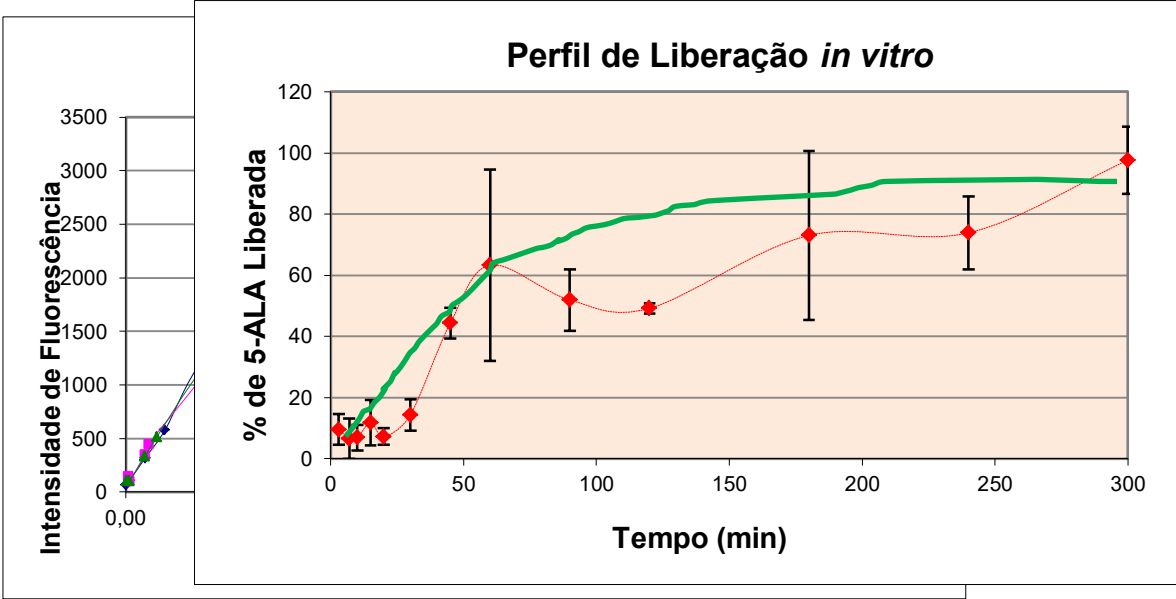
Cianocobalamina

Salicilato Sodio



Caracterização dos NPC-ALA

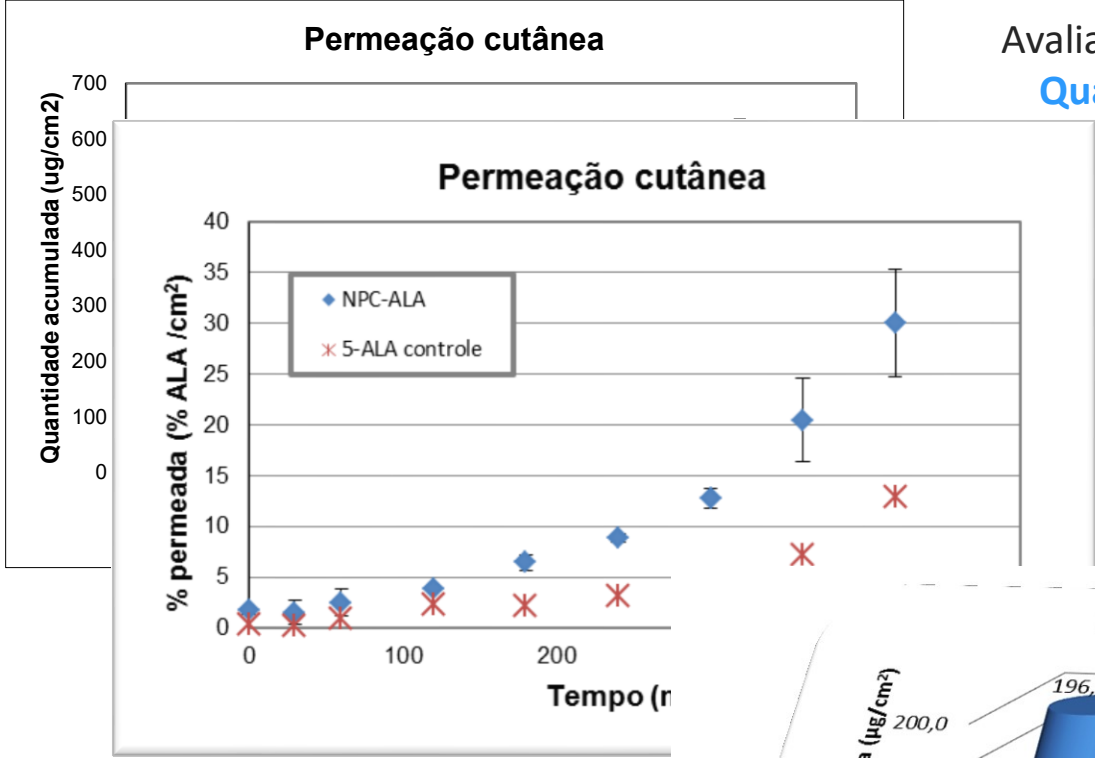
Validação de metodologia de quantificação de 5-ALA



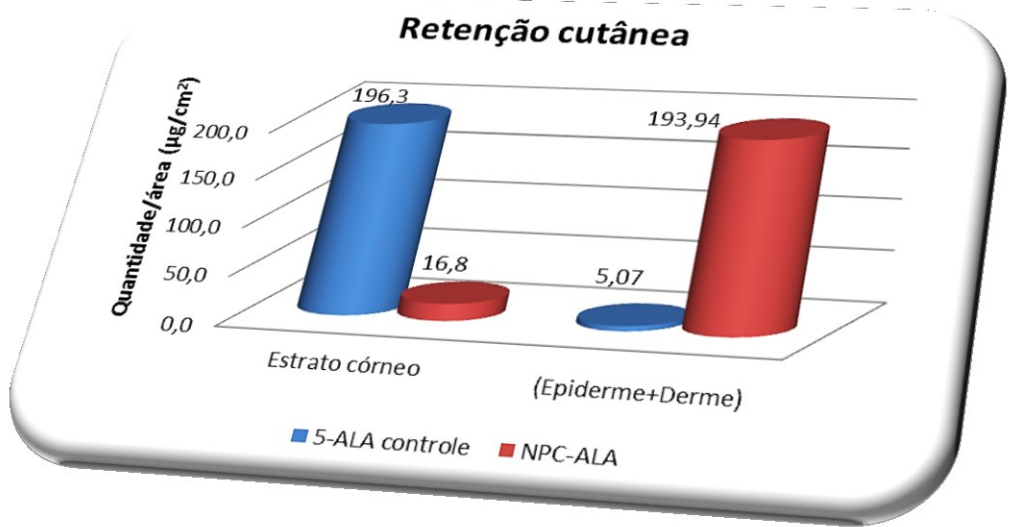
Eficiência de encapsulação e estabilidade química

Amostra	0 dia	7 dias	6 meses	1 ano	1ano/ 9meses	NA
NPC-ALA 1	84,98 ± 0,25%	87,11 ± 3,03%	86,05 ± 7,92%	79,73± 10,54%	74,15± 3,41%	NA
Amostra	0 dia	7 dias	30 dias	60 dias	75 dias	6 meses
NPC-ALA 2	90,12± 10,39%	90,15±12,02%	81,54±11,96%	79,54±9,31%	82,77± 13,9%	73,34±1,61%

Estudo de permeação cutânea



Avaliação do 5-ALA controle e NPC-ALA
Quantidade acumulada e % liberada
Quantificação da retenção no estrato córneo e na (epiderme+derme)



Amostra	Lag time (min)	Fluxo, J (µg/cm².min ⁻¹)	Aumento do fluxo
5-ALA controle	107,13	1,4094	NA
NPC-ALA 2	107,20	1,5126	7,32%

Mecanismo de ação

Ilustração esquemática da oclusão promovida pelas nanoestruturas.

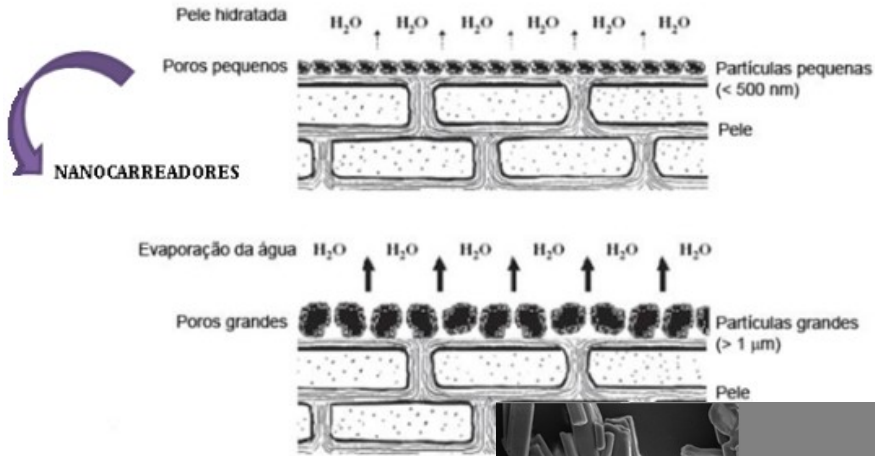
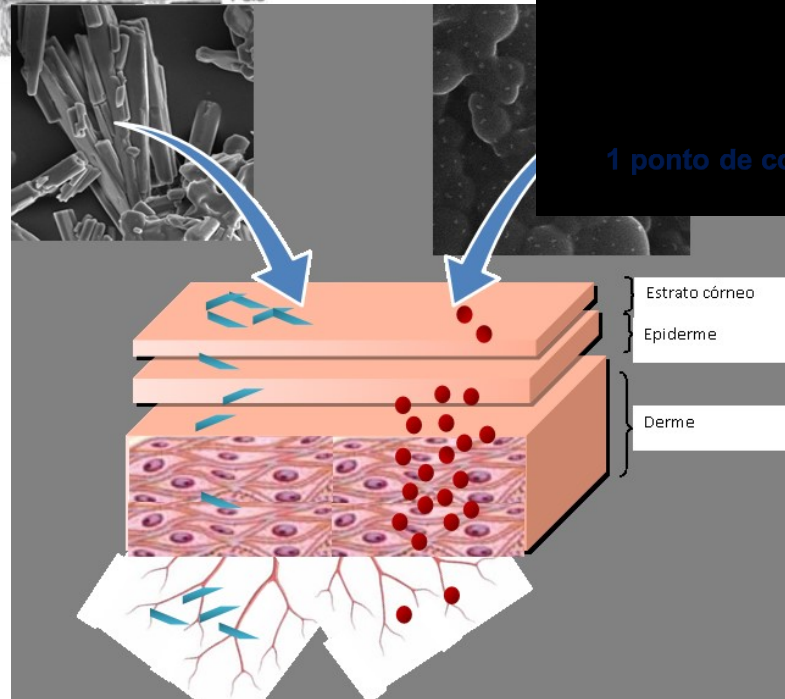
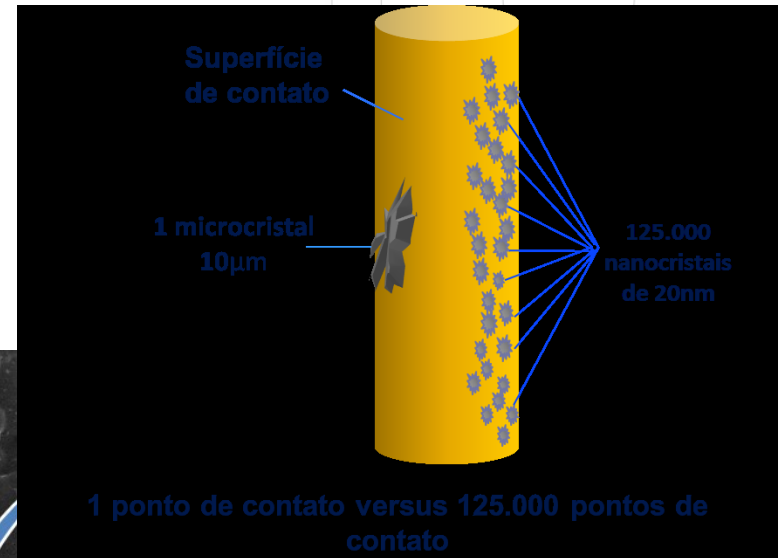
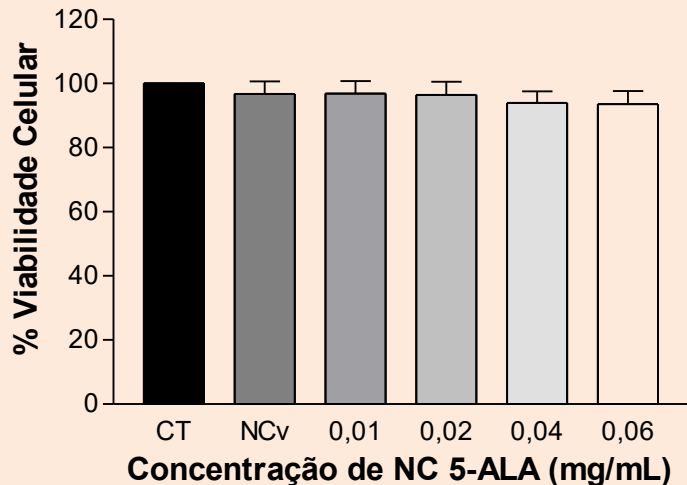


Ilustração esquemática do aumento da área superficial e adesividade do material nanométrico.

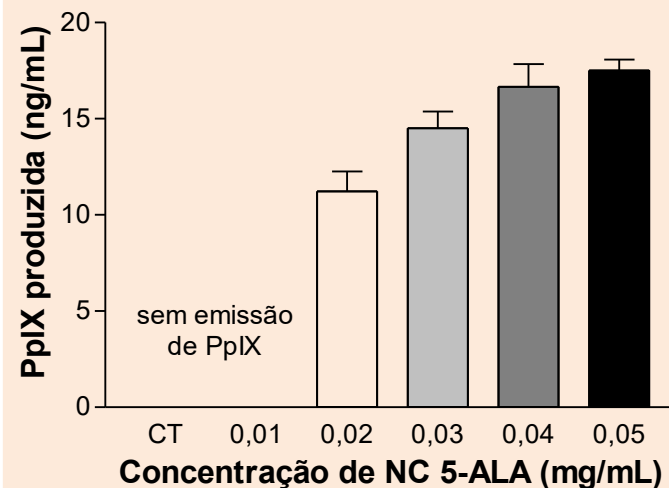


Citotoxicidade



- As [] de 0,1 e 0,2mg/mL diferiram do controle (diferença que se caracteriza pela morte celular de 20% ou mais).
- Definição da faixa de concentração dos NPCs a ser utilizada nos estudos posteriores .
- O segundo teste com NPC-ALA na faixa de 0,01 a 0,05mg/mL evidenciou que nesta faixa os NPC-ALA não apresentam toxicidade significativa.
- Para verificação de possíveis interferentes e confirmação dos resultados de citotoxicidade dos NPC-ALA avaliou-se a toxicidade dos NPCs placebo , que também não apresentou toxicidade significativa com relação ao controle.

Produção de PpIX pelos NPC-ALA

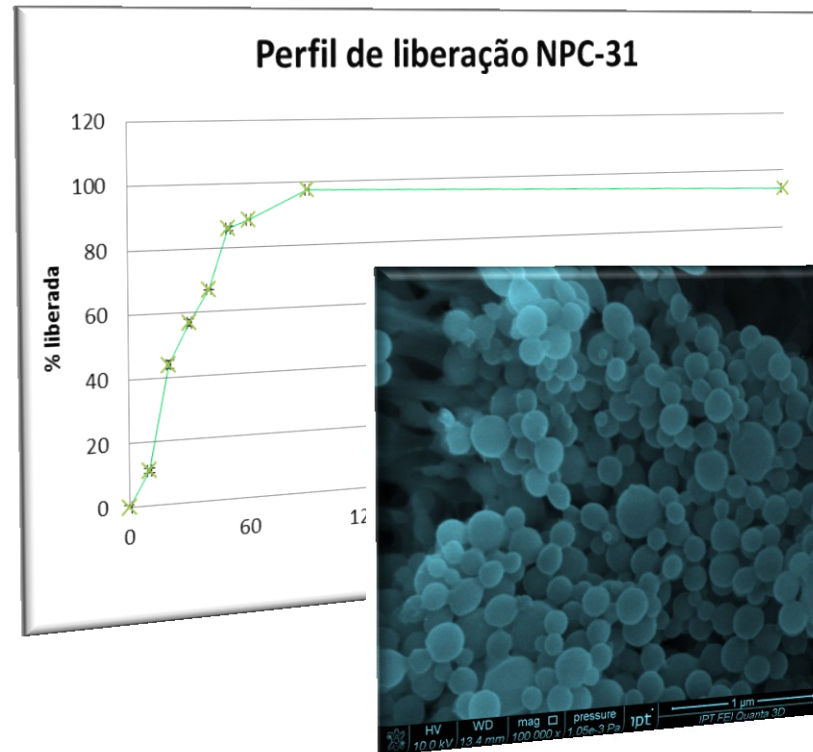


- Avaliação da produção de PpIX a partir do ALA encapsulado nos NPCs.
- O resultado demonstram a capacidade do sistema de liberar o ALA que é posteriormente metabolizado em PpIX pelas células .
- Os resultados também comprovam a manutenção da atividade química da molécula nanoencapsulada.

Outras aplicações

Tratamento da Leishmaniose

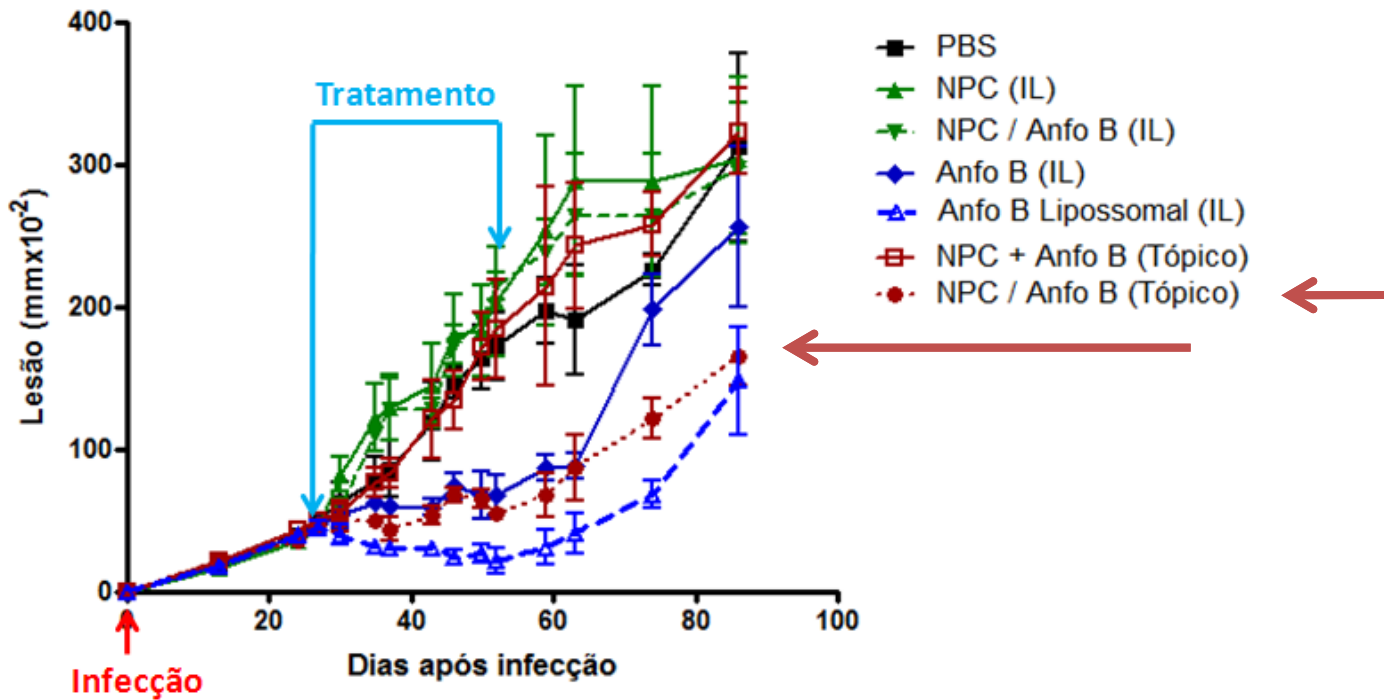
- Cooperação com o grupo da UFRJ;
- Vasta experiência em estudos *in vivo*, com Leishmaniose, e também aplicação de sistemas de liberação controlada.
- Encapsulação de **anfotericina B** nos nanocarreadores.
- Caracterização mostrou resultados muito semelhantes aos NPC contendo ativo modelo e ALA.
- Perfil de liberação com quase 100% do fármaco em aproximadamente 2h.



Amostra	Ativo: polímero	Viscosidade	Tempo de extração	Teor de Água (%)	Diâmetro (nm)	IP*	EE (%)
NPC-16	Anfotericina B: amido	268,4	3h	6,977	582,8	0,198	NA
			5h	0,659	116,0	0,328	
NPC-31	Anfotericina B: amido	164,0	3h	4,058 ± 0,278	655,2	0,273	95,717 ± 4,89
			5h	0,865 ± 0,692	391,7	0,111	

Estudos biológicos *in vivo*

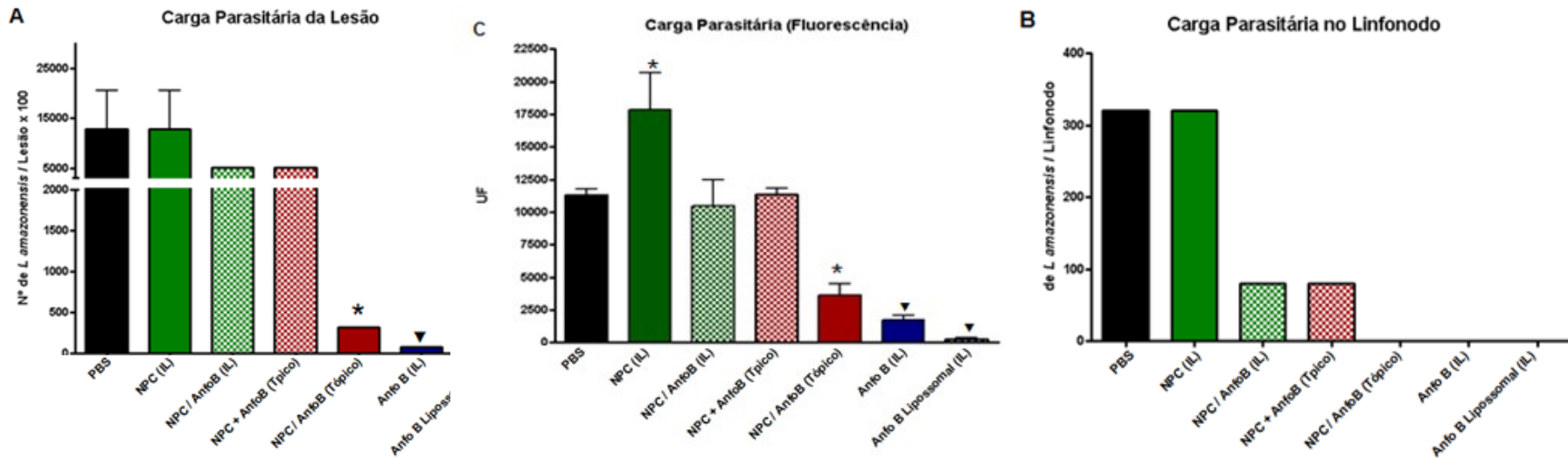
NPC com anfotericina B nanoencapsulada aplicado topicamente diminui a carga parasitária da lesão, atingindo valores próximos àqueles do fármaco puro administrado intralesionalmente (Anfo B (IL)).



Estudos biológicos *in vivo*

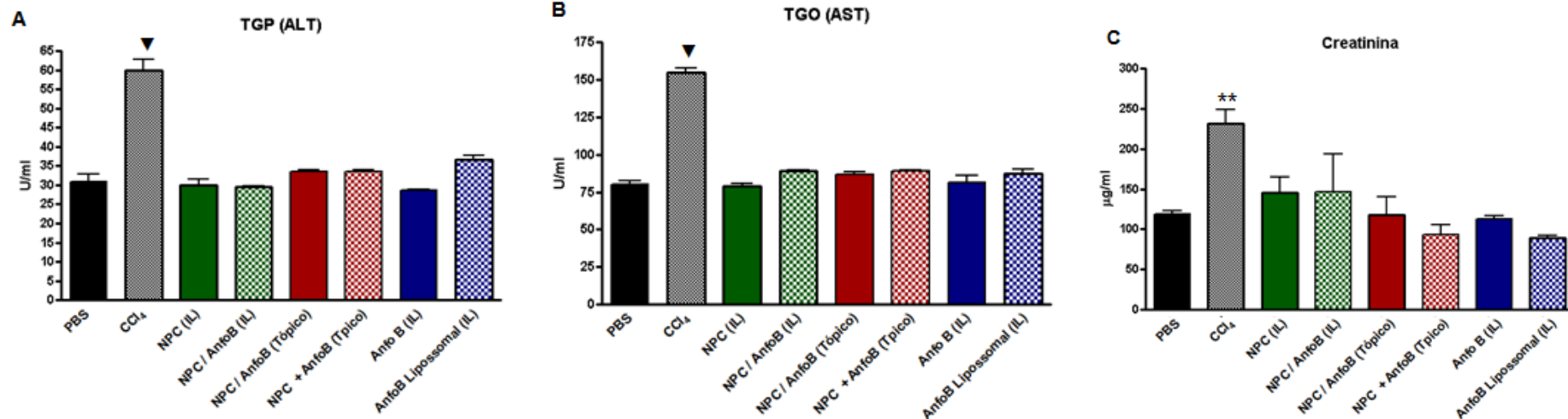
Avaliação da carga parasitária da lesão pelos métodos de fluorescência e da diluição limitante:

Redução da carga quando administrado via tópica em intensidade semelhante que fármaco puro intralesional.



Estudos biológicos *in vivo*

Avaliação da toxicidade hepática, cardíaca e renal.
Resultados semelhantes áqueles com o fármaco puro intralesional.



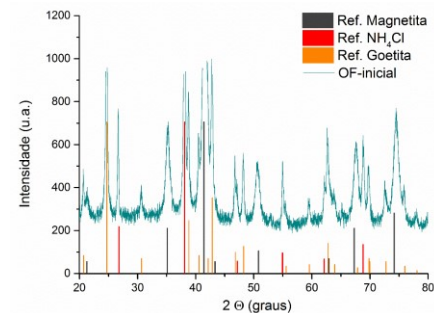
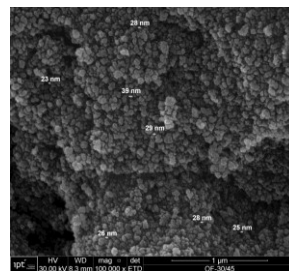
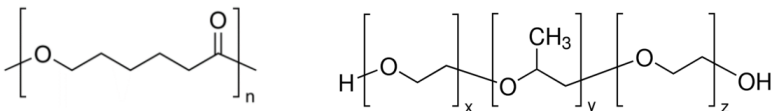
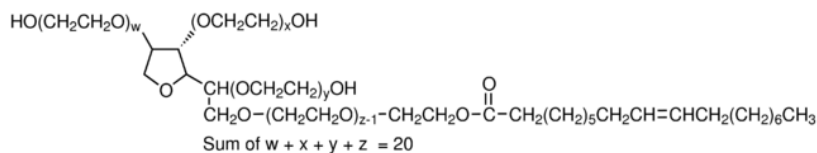
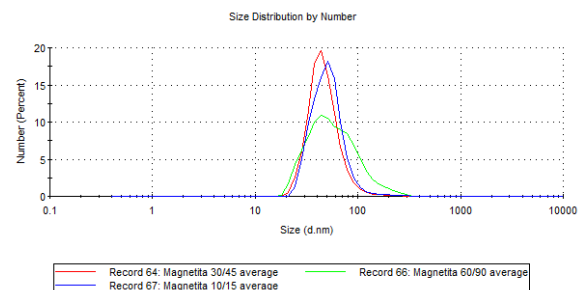
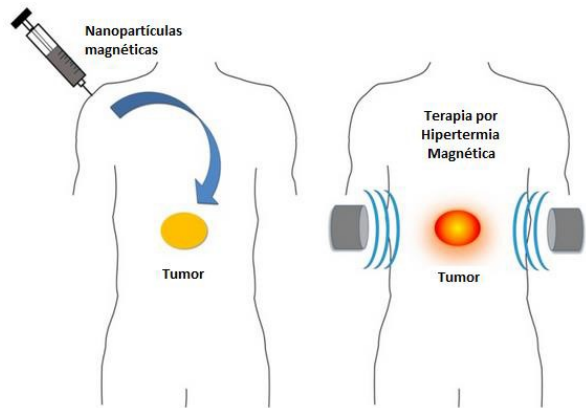
Os NPCs contendo Anfo B demonstraram uma alternativa para terapia de leishmaniose, com ação sítio específica e possibilidade de redução da toxicidade do fármaco.

Theranostics: Nanopartículas Superparamagnéticas Encapsuladas com Polímeros

Síntese das nanomagnéticas por precipitação de óxido de ferro. Caracterização por DLS, IR, DRX, MEV, magnetização (em função de campo externo e de temperatura) e Testes de Aquecimento (geração de calor).

Quando submetidas a um **campo magnético alternado** de magnitude e frequência adequadas, nanopartículas absorvem a energia gerada pela combinação da reversão de campo numa dada frequência, e **mecanismos de relaxação interna revertem a energia acumulada na forma de calor - Hipertermia**.

Nanomagnéticas podem atuar no **diagnóstico** de doenças como **agentes de contraste para imagem por ressonância magnética**, ao **reduzirem os tempos de relaxação dos prótons**, após serem excitados por um campo externo.



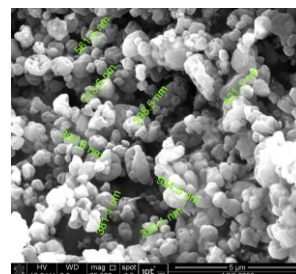
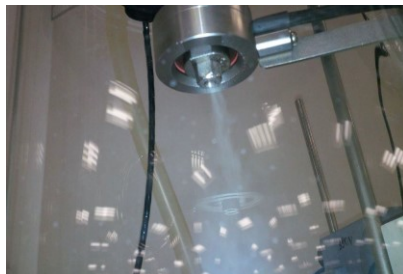
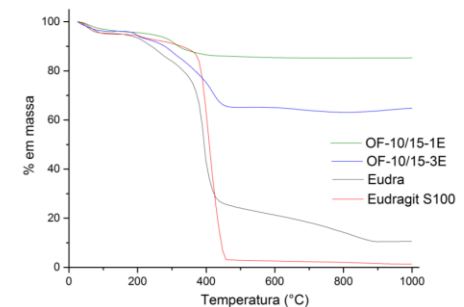
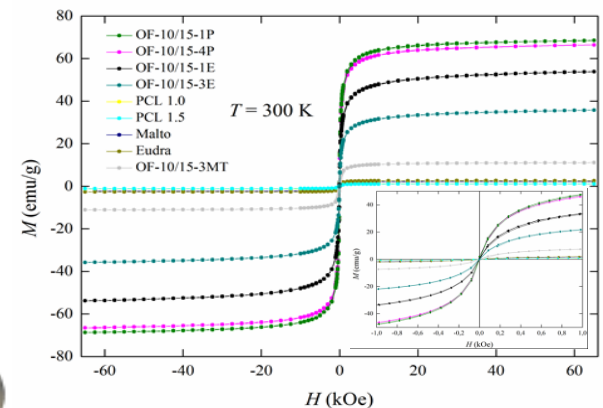
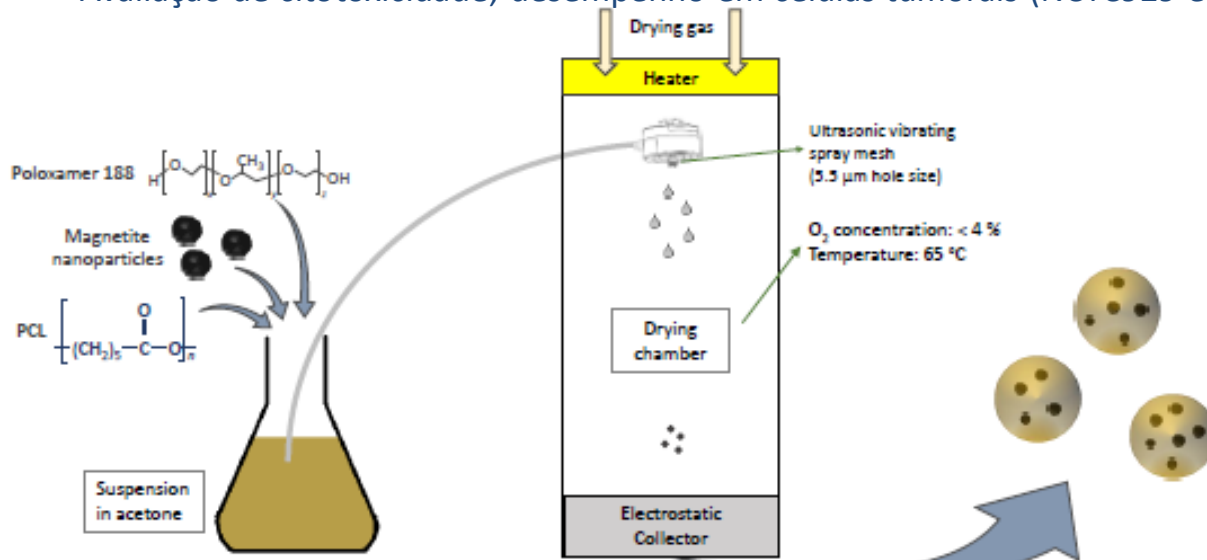
Theranostics: Nanopartículas Superparamagnéticas Encapsuladas com Polímeros

Síntese das **partículas poliméricas** contendo as nanomagnéticas com diferentes polímeros por nanospray dryer. Caracterização por DLS, IR, DRX, TG, MEV, e eficiência de encapsulação.

Construção de **nanoencapsulados** com sitio-especificidade (maltodextrina, poloxamer e outros polímeros).

Avaliação da manutenção das propriedades magnéticas (em função do campo e da temperatura).

Avaliação de citotoxicidade; desempenho em células tumorais (NCTC929 e Hela de Cervix Adenocarcinoma e HepG2).

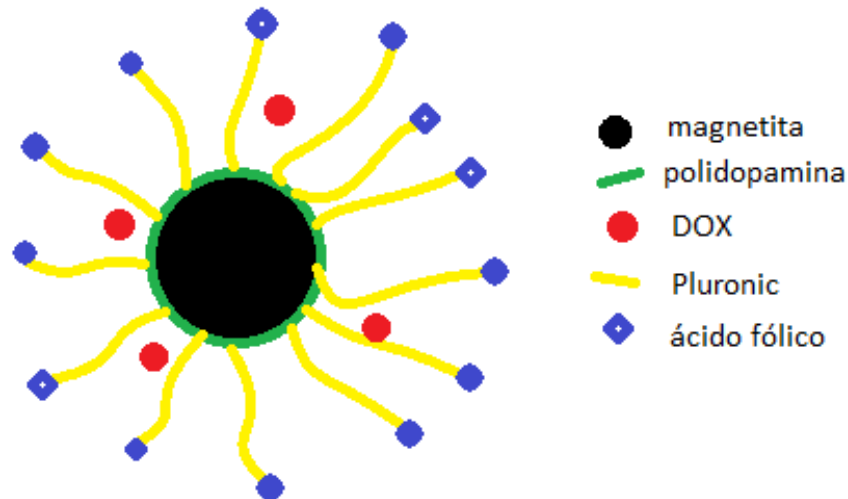


Plataforma magnética multifuncional de magnetita funcionalizada com diferentes ligantes para aplicações biológicas

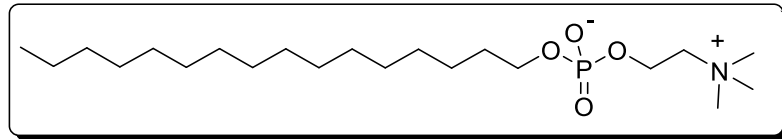
Próximos passos

O tamanho reduzido das nanopartículas também auxilia na sua acumulação em tumores, através do chamado efeito EPR.

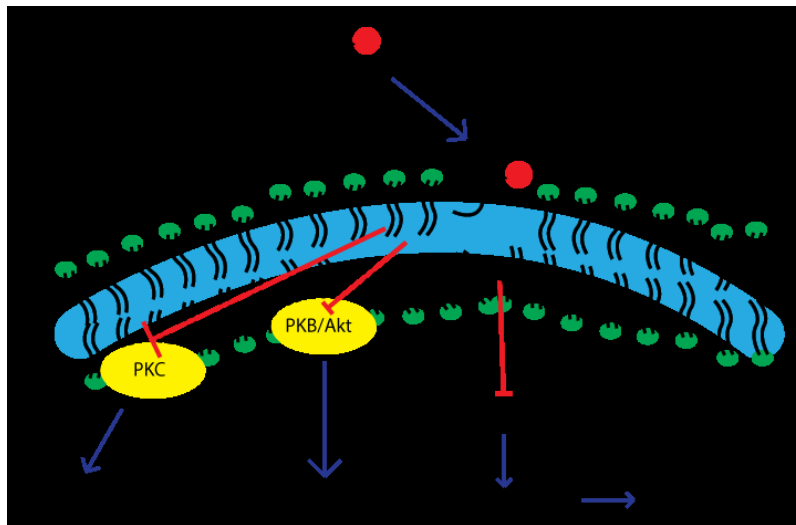
O acoplamento de ligantes em sua superfície permite o **ancoramento de moléculas com atividades específicas**. O sistema pode ser constituído então pela nanopartícula de magnetita e diversos ligantes, ditos “blocos de construção”, para formar uma **plataforma multifuncional**.



Desenvolvimento de nanoestruturas poliméricas para encapsulação do antitumoral miltefosina

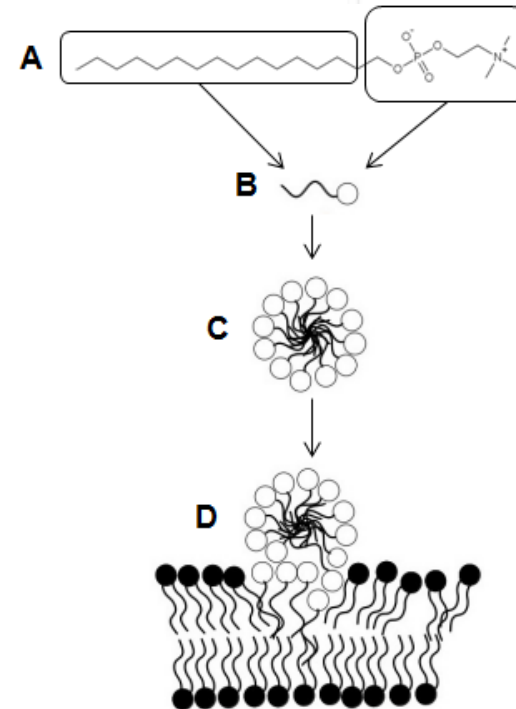


Estrutura química da miltefosina – Hexadecilfosfocolina (HePC)
Anfifílica: Grupo fosfocolina + Cadeia 16 C



Mecanismos de ação da miltefosina:

- Interage com as membranas celulares (principalmente células em divisão);
- Atua inibindo proteínas quinases (PKC/PKB)
- Induz morte celular via apoptose
- Desregula a síntese de fosfocolina de membrana (análogo)



Representação esquemática da interação entre a micela de miltefosina e uma bicamada lipídica

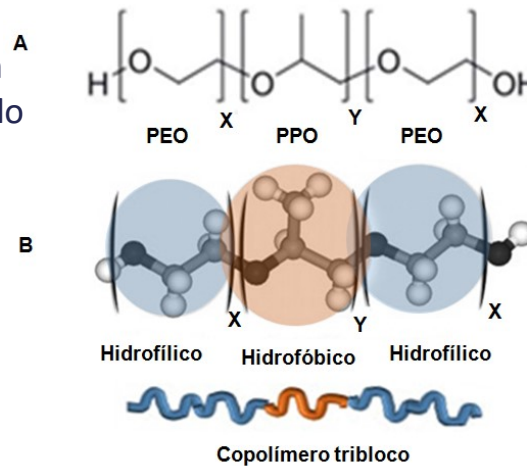
Hemólise

Irritação
gástrica

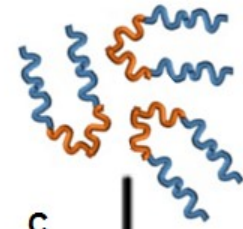
Desenvolvimento de nanoestruturas poliméricas para encapsulação do antitumoral miltefosina

O tamanho reduzido das nanopartículas também auxilia na sua acumulação em tumores, através do chamado efeito EPR.

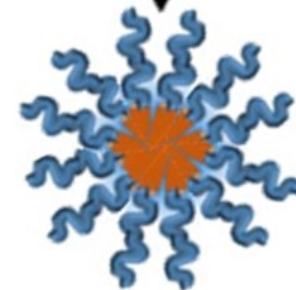
Pluronic®



Monômeros



C



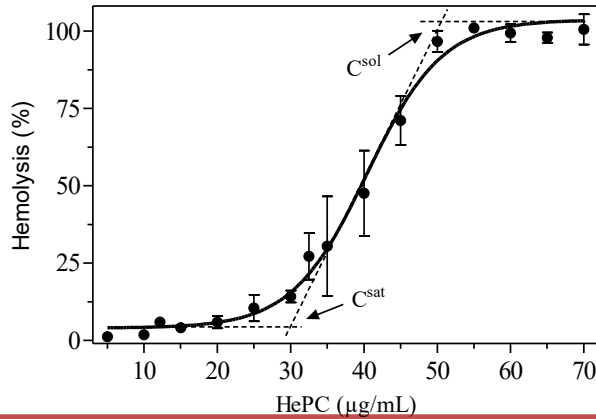
Micela polimérica

Pluronic	Estrutura molecular	Massa molecular	PEO (%)	Relação PPO/PEO	HLB
L44X	EO ₁₂₀ PO ₂₀ EO ₁₂₀	2.200	40	0,83	12-18
L64X	EO ₁₃₀ PO ₃₀ EO ₁₃₀	2.900	40	0,76	12-18
L121	EO ₀₄₀ PO ₆₀ EO ₀₄₀	4.400	55	0,13	1
F68X	EO ₇₈₀ PO ₃₀ EO ₇₈₀	8.400	80	5,20	>24
F108	EO ₁₃₂ PO ₅₀ EO ₁₃₂	14.600	80	5,28	>24
F127	EO ₁₀₆ PO ₇₀ EO ₁₀₆	12.600	70	3,03	18-23

Para superar limitações de administração oral e parenteral: desenvolvimento de micelas poliméricas de pluronic. Espera-se reduzir o efeito hemolítico e/ou toxicidade gastrointestinal e desta forma viabilizar a administração da miltefosina.

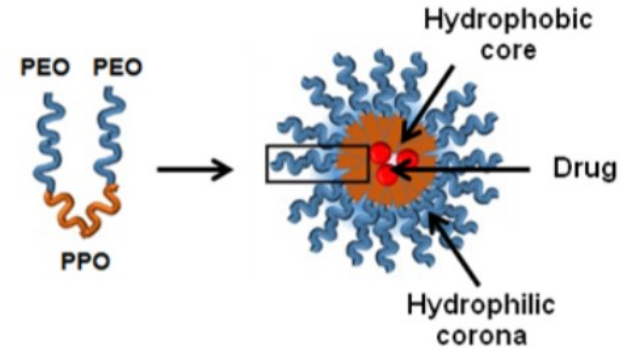
Desenvolvimento de nanoestruturas poliméricas para encapsulação do antitumoral miltefosina

Efeito Hemolítico da Miltefosina

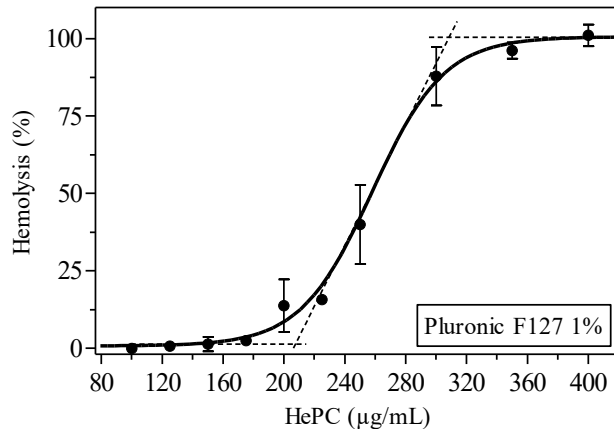


HC₅₀ : 30 µg/mL

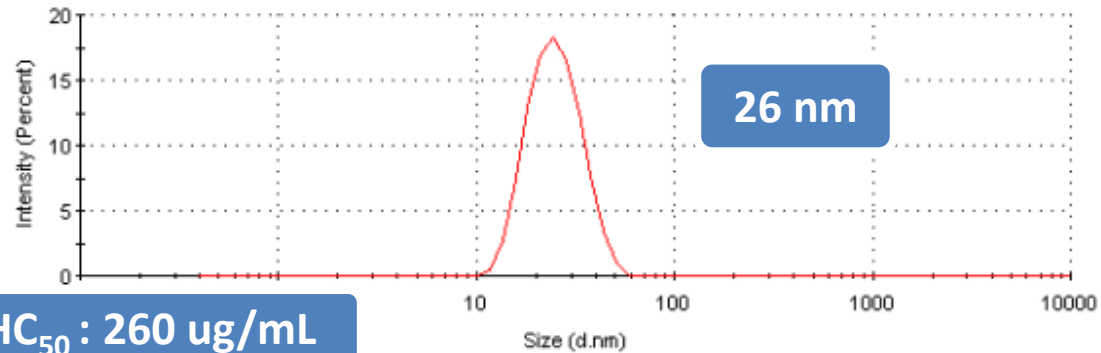
Miltefosina livre hemolisou 50% de hemácias



Micelas poliméricas Pluronic F127 + Miltefosina

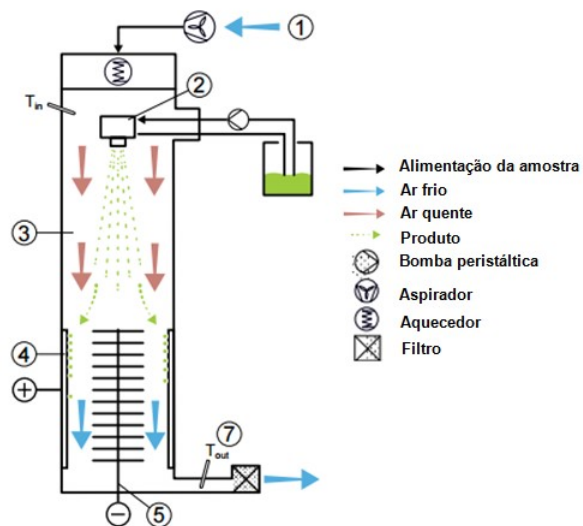


HC₅₀ : 260 µg/mL

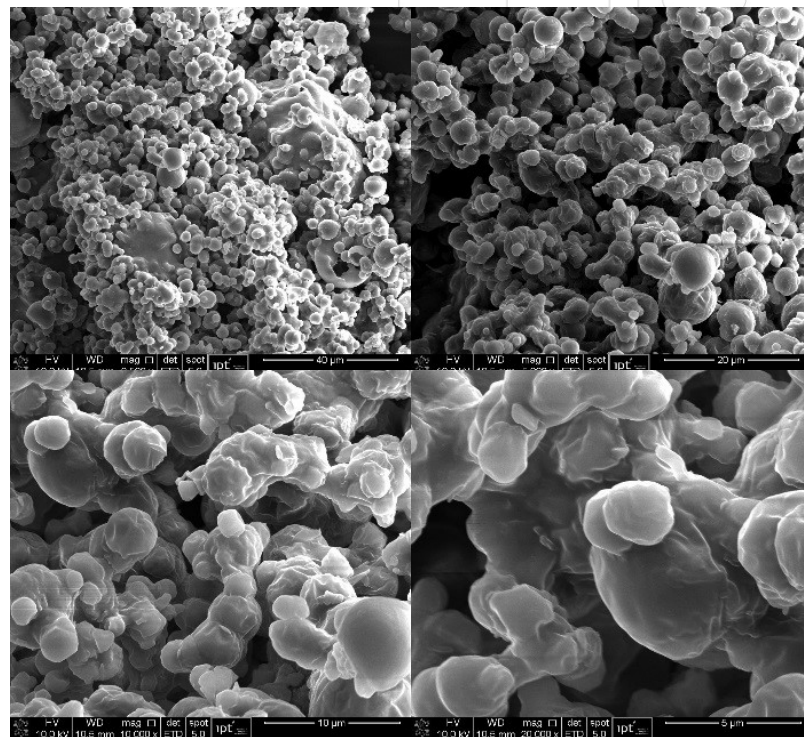


Concentração necessária de miltefosina encapsulada para hemólise de 50% de hemácias foi aumentada mais de 8x.

Secagem das micelas poliméricas por NanoSpray-Dryer



Temp. entrada: 100 °C
Temp. saída: 52 °C
Alimentação: 100 mL/h
Vel. Ar: 130 L/min
Rendimento 74%

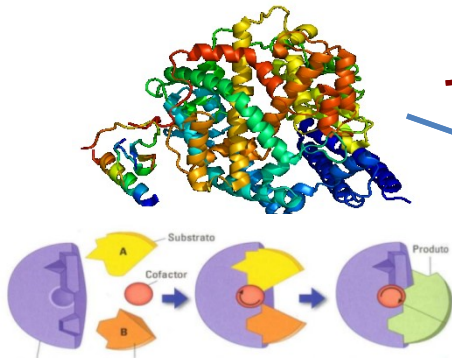


Diferentes processos de secagem para obtenção de formulação de preparo extemporâneo.

Biossensores

Foco no processo de produção das biomoléculas de reconhecimento

Enzimas (extração e purificação)

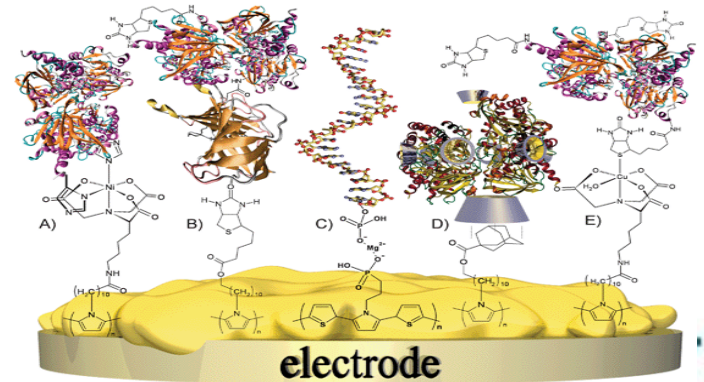
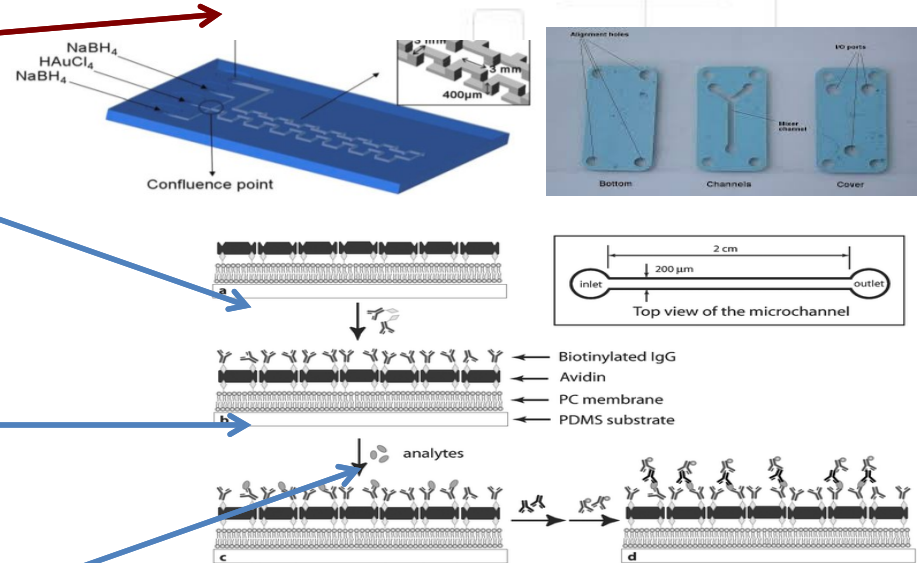


Produção de anticorpos monoclonais



Produção de antígenos

Imobilização em dispositivos



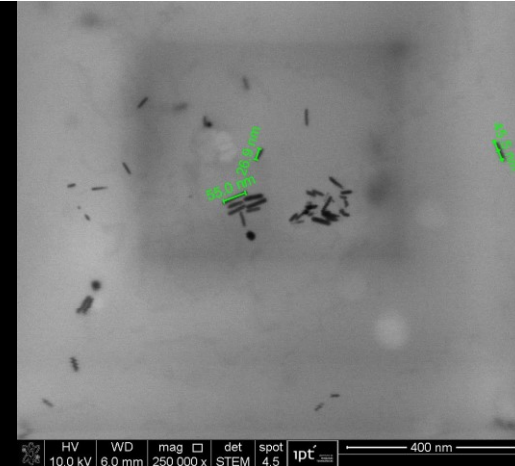
Detecção de microRNA circulante *in vitro* utilizando nanopartículas de ouro

MicroRNAs: RNAs não-codificantes que possuem ~22 nucleotídeos de comprimento. Têm a capacidade de controlar a expressão do gênica pela ligação ao mRNAs, sua expressão aumenta com aumento da fase dos tumores .

Biomarcador para detecção do desenvolvimento de tumores e o monitoramento dos efeitos das terapias em pacientes.

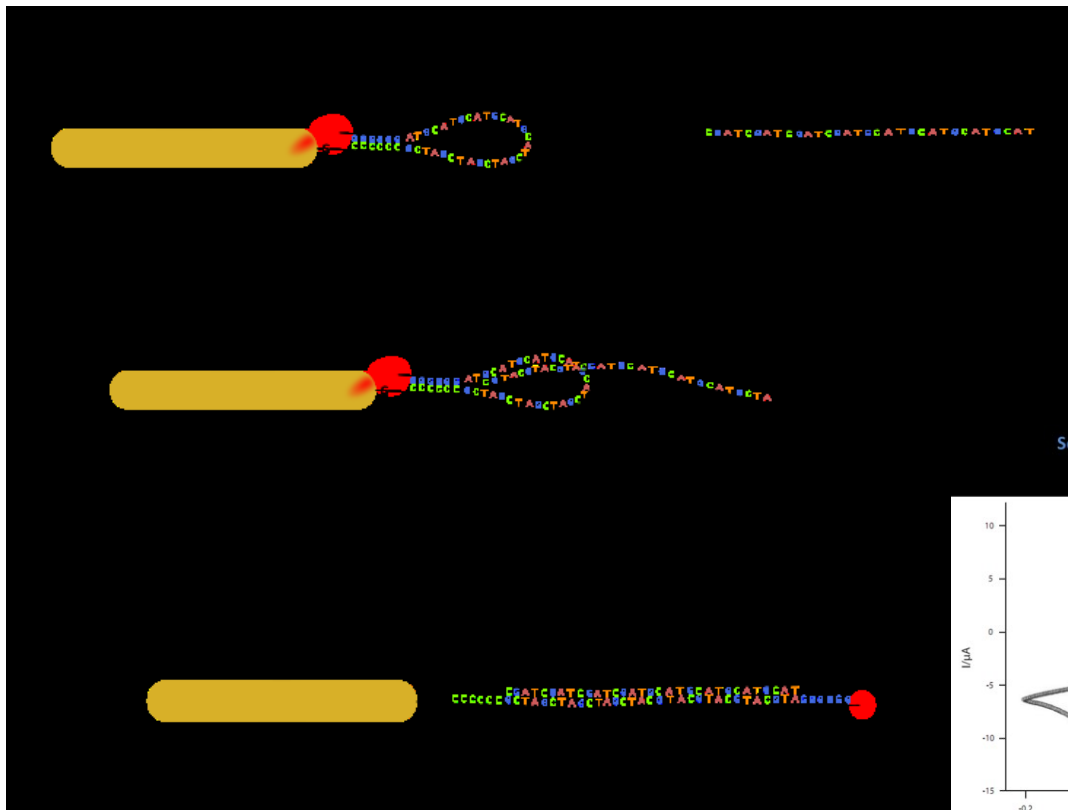


AAAAATCTTATTAAAAATACTTATCAAC

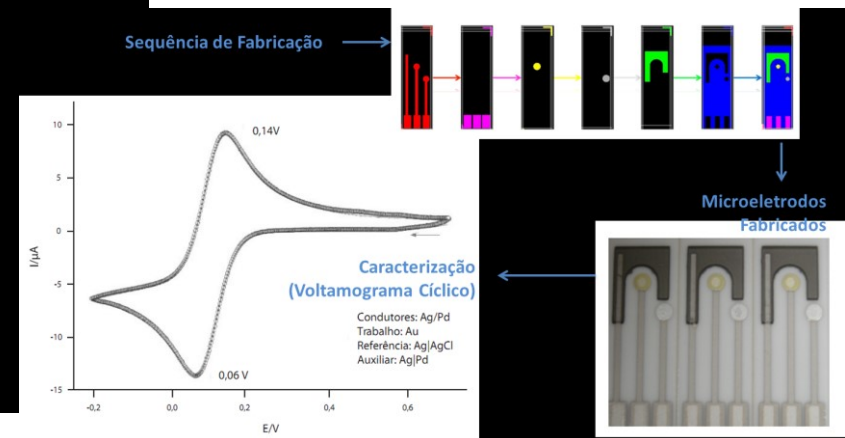


Detecção de microRNA circulante *in vitro* utilizando nanopartículas de ouro

Detectar a presença do miR-21 livre no meio de cultura por meio da técnica SERS em culturas 2D e 3D através de nanopartículas de ouro recobertas com fitas simples de DNA complementar ao microRNA miR-21.



Imobilização em dispositivos e detecção por impedância.



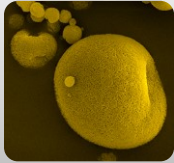
Núcleo de BioNanoManufatura

3 laboratórios

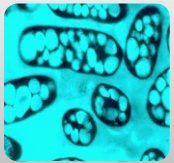
90 Colaboradores



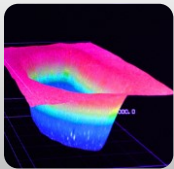
Plataformas Tecnológicas Integradas



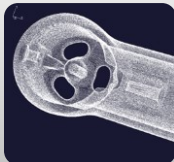
Nanotecnologia: novas possibilidades de intensificação de processos (físicos, químicos e biológicos) através da redução de escala e com ganhos na qualidade dos produtos



Biotecnologia: processos menos nocivos ao meio ambiente com menor consumo de energia e uso de matérias primas renováveis



Microtecnologia: capacidade de produzir micro e nano dispositivos para biosensores, microreatores, MEMS e NEMS



Metrologia dimensional avançada: capacidade de medição em 3D permitindo diagnóstico e desenvolvimento de micro e nano dispositivos



Natália Neto pereira Cerize
ncerize@ipt.br

OBRIGADA.