

Subproject 19: Nanomedicine applied to the Controlled Release of Nucleic Acids and antitumor drugs, and to Hyperthermia for Cancer Treatment

Principal Investigator: *Valtencir Zucolotto*

Abstract

Nanomedicine is a cutting-edge area in which the exclusive optical, magnetic and electronic properties of nanomaterials, combined with their characteristic length scale, provide particles suitable for diagnostic and treatment of several diseases [1-3], as these structures can selectively penetrate cells and tissues. These systems present improved properties than the ones obtained with conventional drugs. Among the advantages of using nanoparticles as drugs, we emphasise the decreased active ingredient amount, reduction of its adverse effects and higher stability. The last decade has witnessed a significant advance in this field, with promising results in all phases of pre-clinical and clinical trials [4,5]. Figure 1 shows a typical polymeric nanoparticle for controlled release and a diagram describing how nanostructured systems can be used to deliver nucleic acids in tumors and target tissues.

In cancer therapy, in particular, many nanomaterials have been used as active agents for localized hyperthermia. This approach allows that, once the nanoparticles are in the desired tissue (a tumor, for instance), non-invasive application of a magnetic field or light exposure leads to a highly localized temperature increase in the tissue, in such a way that the healthy surroundings of the tissue are minimally damaged. In the specific case of photo-hyperthermia, the temperature increase is caused by light absorption; this concept has been shown useful to kill cancer cells selectively [6] and has been applied with gold nanorods, whose surface can be easily modified with drugs and biomolecules to increase the targeting efficiency [7, 8].

Another class of nanoparticles that are candidates for hyperthermia agents are the ones that contain metallic oxides, which release significant amounts of heat when under an alternating magnetic field due to reverse magnetization. The heat release is related to three mechanisms: hysteresis, relaxation and friction-induced heat loss in viscous suspension, and depends on nanoparticle size, shape, dispersity, symmetry and composition. It has been calculated that, for an alternated frequency of 400 KHz, 99% of the magnetic field energy can be transferred to a nanoparticle 15 cm far from the surface of the body. Recent studies have demonstrated that these nanoparticles are more efficient as a cancer treatment than conventional antitumor drugs [9].

Goals

This proposal aims to develop, optimize and evaluate the *in vitro* and *in vivo* efficacy of polymeric nanoparticles for controlled delivery and release of antitumor agents, and for photo and magneto hyperthermia.

In the **controlled release area**, we plan to develop polymeric nanoparticles to deliver two antitumor agents.

1) RNA (miRNAs, piRNAs, PASRs and lncRNAs (*long non-coding RNAs*)) delivery in tumor models that reproduce the cell metabolic pathways, including gene specific therapy. 2) Antitumor drug delivery, including α tocopherol acid succinate (α -TOS), to cells derived from acute monocytic leukemia. Other antitumor agents may be included.

In the **hyperthermia area**, we plan to develop two systems to induce anticancer hyperthermia: gold nanorods and iron oxide superparamagnetic nanoparticles. The temperature increase is caused by infrared light exposure (photohyperthermia) and by application of an alternating magnetic field (magnetohyperthermia), respectively.

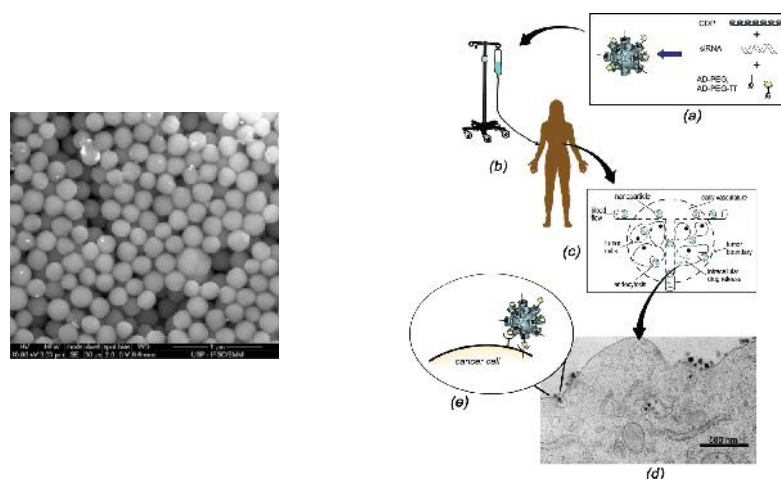


Figure 1. Left: SEM image of polymeric nanoparticles for drug delivery applications produced at GNano/IFSC/USP. Right: diagram explaining the action of RNAi carrier nanoparticles. Adapted from *Molecular Pharmaceutics*, 6 (3), 659, 2009.

Specific Goals

Controlled Release Area:

1. Design and fabrication of the nanoparticles containing the therapeutic agents.
2. Analysis and optimization of the drug binding to the nanoparticles and the kinetics of the drug release.

Researchers

Edson Giuliani R. Fernandes

Idelma Aparecida Alves Terra

Jaqueline Pérola de Souza

Juliana Cancino Bernardi

Rodrigo Panepucci

Wilson A. Silva Jr.

Eduardo Rego

Iêda Maria Martinez Paino

José Alexandre Marzagão Barbuto

Patrícia Mayrink

Thiers Massami Uehara

Graduate Students:

Camilo Arturo Suarez Ballesteros

Lilian Maria Pessoa da Cruz Centurion

Valéria Spolon Marangoni

Fabício Aparecido dos Santos

Laís Canniatti Brazaca

Henrique A. M. Faria

Lais Ribovski

References

Jain, P. K. et al. Au nanoparticles target cancer. *Nano Today*. 2007; 2, 18-29.

El-Sayed, M. A. et al. Some interesting properties of metals confined in time and nanometer space of different shapes. *Accounts Chem. Res.* 2001; 34, 257-264.

Perez-Juste. J. et al. Gold nanorods: synthesis, characterization and applications. *Coord. Chem. Rev.* 2005; 249, 1870-1901.

Davis, M. E. et al. The first targeted delivery of siRNA in humans via a self-assembling, cyclodextrin polymer-based nanoparticle: from concept to clinic. *Mol. Pharmaceut.* 2009; 6, 659-668.

Davis, M. E. et al. Evidence of RNAi in humans from systemically administered siRNA via targeted nanoparticles. *Nature*. 2010; 464, 1067-1071.

Jin, S. et al. Surface chemistry-mediated penetration and gold nanorod phototherapy in multicellular tumor spheroids. *Nanoscale*. 2013; 5, 143-146.

El-Sayed, I. H. Nanotechnology in head and neck cancer: the race is on. *Curr. Oncol. Rep.* 2010; 12, 121-128.

Huang, H. C. et al. Simultaneous enhancement of photothermal stability and gene delivery efficacy of gold nanorods using polyelectrolytes. *ACS Nano*. 2009; 3, 2941-2952.

Lee, J. H. et al. Exchange-coupled magnetic nanoparticles for efficient heat induction. *Nat. Nanotechnol.* 2011; 6, 418-422.

Subprojeto 19.: Sistemas Nanoestruturados para Liberação Controlada de Ácidos Nucleicos e Antitumorais e para Hipertermia contra o Câncer

Pesquisador Responsável: *Valtencir Zucolotto (GNano/IFSC/USP)*

Introdução

A aplicação da nanotecnologia em medicina representa uma área de fronteira, recentemente denominada de *Nanomedicina*, na qual as propriedades ópticas, magnéticas e eletrônicas únicas exibidas pelos nanomateriais, combinadas com sua escala de tamanho apropriado, faz com que estes sistemas sejam particularmente interessantes para aplicações, tanto no diagnóstico como no tratamento [1-3], pois podem penetrar de maneira seletiva e controlada em células e tecidos. Estes sistemas oferecem vantagens sobre os fármacos convencionais, incluindo a diminuição da dosagem do ativo, minimização dos efeitos adversos, proteção do fármaco contra degradação e manutenção da sua estabilidade. As pesquisas na área de Nanomedicina intensificaram-se principalmente na última década, com resultados já comprovados e muito promissores em todas as fases de testes pré-clínicos e clínicos (4,5). A figura 1 apresenta uma imagem típica das nanopartículas poliméricas utilizadas para liberação controlada, juntamente com uma ilustração da atuação de sistemas nanoestruturados para entrega controlada de ácidos nucleicos em tumores e tecidos-alvos.

Na terapia contra o câncer, em particular, vários nanomateriais têm sido utilizados como agentes ativos em processos de hipertermia localizada. Essa abordagem permite que nanopartículas inicialmente localizadas em tumores ou regiões específicas sejam estimuladas através de técnicas não invasivas (campo magnético ou luz), causando um aumento de temperatura altamente localizado no tumor/tecido. Com essa abordagem, os danos a células saudáveis ao redor do tumor são minimizados. No caso da foto-hipertermia, a absorção da radiação pode ser convertida em calor, provocando um aumento localizado da temperatura. Este conceito pode ser utilizado como uma estratégia minimamente invasiva para induzir a hipertermia celular e eliminar seletivamente células cancerígenas [6]. Por esta razão, *nanorods* de ouro tem se mostrado promissores para aplicações na fototerapia do câncer. Além disso, a facilidade de modificação de superfície dos *nanorods* de ouro permite a incorporação de biomoléculas e drogas, possibilitando sua atuação como sistemas específicos para regiões de interesse e *drug-delivery* [7, 8].

Outra classe de nanopartículas com grande aplicabilidade em hipertermia refere-se aos óxidos metálicos, que quando sujeitos a um campo magnético alternado mostram grande perda de calor com a magnetização reversa. Esta perda de calor ocorre por três mecanismos: histerese, relaxação e perda por atrito em suspensão viscosa, e depende do tamanho, forma, dispersão de tamanhos, simetria, e de qual material é feita a nanopartícula. Teoricamente, com uma frequência de 400 KHz, 99%

da energia do campo magnético pode ser transferida para a nanopartícula localizada a 15 cm dentro do corpo. Estudos recentes têm demonstrados a alta eficiência terapêutica dessas nanopartículas, sendo superior a tratamento convencionais utilizando drogas antitumorais [9].

Objetivos

Este projeto tem como objetivo central o desenvolvimento, otimização e análise da eficácia *in vitro* e *in vivo* de sistemas nanoparticulados poliméricos para entrega e liberação controlada de agentes para tratamento do câncer, e para indução de foto e magneto-hipertermia.

Para a área de Liberação Controlada, serão desenvolvidas nanopartículas poliméricas carreadoras de dois agentes antitumorais, a saber:

1) Entrega de RNAs (miRNAs, piRNAs, PASRs ou (*long non-coding RNAs* - lncRNAs)), em modelos tumorais, com o propósito de atuarem nas vias de metabolismo celular, incluindo *gene specific therapy*. 2) Entrega de agentes antitumorais, incluindo *α tocopherol acid succinate* (α -TOS) em células derivadas da leucemia monocítica aguda. (A conferir se teremos outras moléculas de interesse).

Na área de Hipertermia serão desenvolvidos dois sistemas para atuarem como agentes promotores de hipertermia contra o câncer: 1) Nanobastões de ouro (nanorods) e 2) nanopartículas superparamagnéticas a base de óxido de ferro. Nesses sistemas, a ativação e elevação da temperatura é realizada através da aplicação de luz no infravermelho (foto-hipertermia), e campo magnético alternado (magneto-hipertermia), respectivamente.

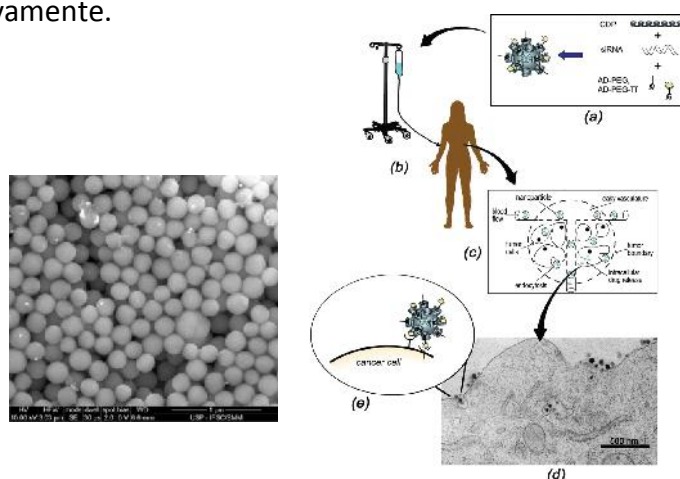


Figura 1. Esquerda: Imagem obtida por SEM de nanopartículas poliméricas carreadoras para drug delivery fabricadas no GNano/IFSC/USP. Direita: ilustração da ação de nanopartículas carreadoras de RNAi. Adaptado de *Molecular Pharmaceutics*, 6 (3), 659, 2009.

Pesquisadores:

Eduardo Rego

. Rodrigo Panepucci

Wilson A Silva Jr

. José Alexandre Marzagão Barbuto

Valtencir Zucolotto

Pesquisadores Nacionais Colaboradores:

Edson Giuliani R. Fernandes

Iêda Maria Martinez Paino

Juliana Cancino Bernardi

Thiers Massami Uehara

Idelma Aparecida Alves Terra

Jaqueline Pérola de Souza

Patrícia Mayrink

Alunos de Pós-Graduação

Camilo Arturo Suarez Ballesteros

Henrique A. M. Faria

Lais Ribovski

Valéria Spolon Marangoni

Fabício Aparecido dos Santo

Laís Canniatti Brazaca

Lilian Maria Pessoa da Cruz Centurion

Referências:

Jain, P. K. et al. Au nanoparticles target cancer. *Nano Today*. 2007; 2, 18-29.

El-Sayed, M. A. et al. Some interesting properties of metals confined in time and nanometer space of different shapes. *Accounts Chem. Res.* 2001; 34, 257-264.

Perez-Juste. J. et al. Gold nanorods: synthesis, characterization and applications. *Coord. Chem. Rev.* 2005; 249, 1870-1901.

Davis, M. E. et al. The first targeted delivery of siRNA in humans via a self-assembling, cyclodextrin polymer-based nanoparticle: from concept to clinic. *Mol. Pharmaceut.* 2009; 6, 659-668.

Davis, M. E. et al. Evidence of RNAi in humans from systemically administered siRNA via targeted nanoparticles. *Nature*. 2010; 464, 1067-1071.

Jin, S. et al. Surface chemistry-mediated penetration and gold nanorod phototherapy in multicellular tumor spheroids. *Nanoscale*. 2013; 5, 143-146.

El-Sayed, I. H. Nanotechnology in head and neck cancer: the race is on. *Curr. Oncol. Rep.* 2010; 12, 121-128.

Huang, H. C. et al. Simultaneous enhancement of photothermal stability and gene delivery efficacy of gold nanorods using polyelectrolytes. *ACS Nano*. 2009; 3, 2941-2952.

Lee, J. H. et al. Exchange-coupled magnetic nanoparticles for efficient heat induction. *Nat. Nanotechnol.* 2011; 6, 418-422.