



Unione europea
Fondo sociale europeo



REGIONE DEL VENETO

**Regione del Veneto
Giunta Regionale
Direzione Formazione e Istruzione**

**RELAZIONE CONSUNTIVA SULL'ATTIVITA' DI RICERCA
(Assegni di ricerca)**

DGR n. 1463 del 08/10/2019

Cod. Ente: 1695 Rag. Sociale Università degli studi di Verona Asse Occupabilità

Cod. progetto 1695-0010-1463-2019 Titolo Sviluppo e Ingegnerizzazione di materiali magnetici "Smart"

Cod. Intervento 1695/10259872-001/231/DEC/20 Titolo dell'intervento PROPRIETÀ FISICHE E BIOLOGICHE DI NANOPARTICELLE MAGNETICHE Sede Verona

Cod. Intervento 1695/10259872-002/231/DEC/20 Titolo dell'intervento RICOPRIMENTO DI NANOPARTICELLE MAGNETICHE CON MOLECOLE ORGANICHE IDROSOLUBILI Sede Verona

*La sottoscritta **Pasquina Marzola** in qualità di Referente/Tutor per la ricerca Sviluppo e Ingegnerizzazione di materiali magnetici "Smart"*

con riferimento all'intervento in oggetto,

*La sottoscritta **Matilde Muccilli** in qualità di Destinatario dell'intervento **1695/10259872-001 /231/DEC/20** in oggetto,*

*Il sottoscritto **Emil Milan** in qualità di Destinatario dell'intervento **1695/10259872-002/231/DEC/20** in oggetto,*

DICHIARANO

che gli interventi in oggetto nel **periodo dal 30/09/2020 al 29/09/2021** si sono articolati nelle seguenti attività:

Attività *(Descrivere le diverse attività svolte nel periodo di riferimento)*

Durante questo periodo le nanoparticelle M55 ter fornite dall'azienda MBN Nanomaterialia sono state funzionalizzate tramite diversi tipi di ricoprimento per successive applicazioni di teranostica e imaging magnetico. L'obiettivo era quello di ottenere delle nanoparticelle che fossero stabili in soluzione acquosa, che non aumentassero troppo in dimensione rispetto alle particelle nude e che avessero un ricoprimento che permettesse un accumulo delle nanoparticelle nelle cellule tumorali. Innanzitutto, per ottenere nanoparticelle stabili in soluzione, queste sono state ricoperte con citrato di sodio che, interagendo con gli ioni metallici sulla superficie delle nanoparticelle riesce a renderle stabili in soluzione acquosa. Per ottenere l'effetto dell'accumulo nell'ambiente tumorale, le nanoparticelle sono state ricoperte anche con glucosio, la fonte di nutrimento per tutte le cellule e di cui le cellule tumorali sono particolarmente avidi. Le nanoparticelle così

funzionalizzate sono state caratterizzate tramite diffrazione a raggi X di polveri (XRPD), spettroscopia FT-IR, DLS, potenziale Z e la spettroscopia elettronica a trasmissione (TEM).

La valutazione della tossicità delle nanoparticelle M55 ter, condotta *in vitro* mediante l'MTT test, è stata necessaria al fine di identificare una dose non tossica per la linea cellulare utilizzata e successivamente anche per l'impegno diagnostico e terapeutico. Per le nanoparticelle M55 ter, in seguito, sono stati eseguiti esperimenti di biodistribuzione per valutare l'uptake cellulare su diversi organi. La colorazione Blue di Prussia, condotta su fettine istologiche, ci ha consentito di individuare, mediante microscopia ottica, la presenza delle M55 ter.

Un'ulteriore capacità di queste nanoparticelle di agire come agenti per termoterapia *in vitro* è stata testata utilizzando lo strumento Magnetherm, mentre, l'efficienza delle M55 ter di agire come mezzo di contrasto è stata indagata mediante uno studio di rilassività utilizzando un tomografo a risonanza magnetica sperimentale Bruker Biospec operante a 7 T.

Metodologie operative (Esporre le metodologie applicate in funzione delle attività svolte e dei contesti operativi di riferimento)

Per il ricoprimento delle nanoparticelle sono state utilizzate diverse tecniche, come la sintesi sol-gel tramite processo Stöber, e successiva funzionalizzazione chimica, trattamento termico sia con metodi tradizionali che tramite reattore a microonde. Quest'ultima tecnica è molto utile, in quanto permette un elevato controllo della temperatura e dei tempi di reazione aumentando notevolmente la riproducibilità dei processi e diminuendo notevolmente i tempi di reazione. Le nanoparticelle sono poi state caratterizzate tramite diffrazione a raggi X su polveri (XRPD) per determinare la composizione delle nanoparticelle, spettroscopia FT-IR per confermare il ricoprimento delle nanoparticelle e DLS per le analisi delle dimensioni e potenziale Z delle nanoparticelle in soluzione acquosa.

L'MTT test è stato eseguito su una linea cellulare tumorale in seguito a trattamento con le nanoparticelle M55 ter. La tossicità cellulare è stata testata a diverse concentrazioni e tempi di incubazione.

La presenza delle nanoparticelle nei diversi organi dell'animale è stata individuata mediante la colorazione istologica. Dopo la somministrazione delle nanoparticelle per via endovenosa, gli organi sono stati espianati dall'animale, processati ed inclusi in paraffina. Le fettine di tessuto sono state tagliate al microtomo e colorate tramite la colorazione Blue di Prussia. Successivamente sono state analizzate mediante il microscopio ottico. La termoterapia *in vitro* è stata testata sulla linea cellulare tumorale incubate con le M55 ter ed esposte ad un campo magnetico alternato.

La rilassività delle M55 ter è stata calcolata in risonanza magnetica, diluendo le M55 ter in acqua ed ottenendo così una rilassività di $53 \text{ mMol}^{-1}\text{s}^{-1}$.

Risultati (Indicare i risultati conseguiti rapportati agli obiettivi della ricerca)

Le nanoparticelle M55 ter sono state funzionalizzate utilizzando diverse tecniche e diverse sostanze organiche idrosolubili. Le nanoparticelle sono state efficacemente ricoperte con citrato e glucosio conferendo alle nanoparticelle stesse buona stabilità in ambiente acquoso. L'analisi IR delle nanoparticelle ricoperte ha evidenziato la presenza sia del citrato che del glucosio, mentre l'analisi DLS ha mostrato una dimensione di circa 100 nm e una buona stabilità in acqua.

Dall'analisi dei risultati ottenuti dai vari test sperimentali si può evincere che:

le M55 ter risultano essere biocompatibili; tali particelle sembrano accumularsi in moderata quantità negli organi testati; sono capaci di operare come agenti per termoterapia *in vitro* e sono in grado di agire come mezzo di contrasto.

Sede di svolgimento dell'attività (Riportare il luogo in cui si è svolta l'attività)

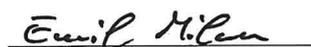
- Università di Verona, Dipartimento di Biotecnologie Ca' Vignal 1, strada Le Grazie 15, laboratorio nanomateriali.
- Università di Verona – Istituti biologici – Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina e Movimento - Sezione di Anatomia ed Istologia.
- Smart working da domicilio, Zevio (VR) e da residenza, Quinto di Treviso (TV)
- Smart working da domicilio Verona (VR) e da residenza, Bojano (CB)
- La collaborazione con le aziende partner a causa della pandemia si è svolta da remoto

Verona, 29/09/2021

Firma del Destinatario



Firma del Destinatario



Firma del Referente/Tutor per la Ricerca Paolino Nobile



Unione europea
Fondo sociale europeo



REGIONE DEL VENETO

Regione del Veneto
Giunta Regionale
Direzione Formazione e Istruzione

ABSTRACT DI RICERCA
(intervento assegni di ricerca)

DGR n. 1463 del 08/10/2019

Cod. Ente: 1695 Rag. Sociale Università degli studi di Verona Asse Occupabilità

Titolo progetto Sviluppo e Ingegnerizzazione di materiali magnetici "Smart"
cod. 1695-0010-1463-2019 COD. CUP: B35J19001600002

Cod. Intervento 1695/10259872-001/231/DEC/20

**Titolo dell'intervento: PROPRIETÀ FISICHE E BIOLOGICHE DI NANOPARTICELLE
MAGNETICHE**

Relativamente all'intervento in oggetto che si è svolto nel periodo dal 30/09/2020 al 29/09/2021 viene riportato un breve abstract sull'attività di ricerca svolta

Le nanoparticelle M55 ter sembrano essere dei promettenti ed innovativi nanomateriali da utilizzare come agenti diagnostici e terapeutici. Al fine di dimostrare tali potenzialità le caratteristiche fisiche e biologiche rilevanti sono state studiate. Tramite il test MTT di vitalità cellulare, utilizzando una linea cellulare tumorale, è stato dimostrato che le M55 ter non alterano in maniera significativa la vitalità cellulare fino alla concentrazione di 150 ug/mL e fino ad un tempo di incubazione di 48 h. Dopo l'incubazione, le cellule sono state esposte ad un campo magnetico alternato; in questo caso si è ottenuta una diminuzione significativa della vitalità cellulare dimostrando così l'efficacia terapeutica *in vitro*. Attraverso l'utilizzo di un tomografo a risonanza magnetica sperimentale Bruker Biospec operante a 7 T è stato possibile dimostrare la capacità delle M55 ter di agire come mezzo di contrasto per risonanza magnetica. Le M55 ter hanno mostrato infatti di poter alterare il segnale di risonanza magnetica in una misura simile a quella di altri mezzi di contrasto già utilizzati.

Verona , 29/09/2021

Firma del Destinatario (assegnista)

Firma del Referente per la ricerca (prof.ssa Marzola)

Firma del responsabile di progetto
(prof.ssa Marzola)



Unione europea
Fondo sociale europeo



REGIONE DEL VENETO

**Regione del Veneto
Giunta Regionale
Direzione Formazione e Istruzione**

**ABSTRACT DI RICERCA
(intervento assegni di ricerca)**

DGR n. 1463 del 08/10/2019

Cod. Ente: 1695 Rag. Sociale Università degli studi di Verona Asse Occupabilità

Titolo progetto Sviluppo e Ingegnerizzazione di materiali magnetici "Smart"
cod. 1695-0010-1463-2019 COD. CUP: B35J19001600002

Cod. Intervento 1695/10259872-002/231/DEC/20

Titolo dell'intervento: RICOPRIMENTO DI NANOPARTICELLE MAGNETICHE CON MOLECOLE ORGANICHE IDROSOLUBILI

Relativamente all'intervento in oggetto che si è svolto nel periodo dal 30/09/2020 al 29/09/2021 viene riportato un breve abstract sull'attività di ricerca svolta

Le nanoparticelle magnetiche offrono molte opportunità di ricerca in ambito medicale, ad esempio possono essere utilizzate nella diagnostica (MRI) e nella teranostica (ipertermia). Per poter svolgere al meglio queste funzioni le nanoparticelle devono essere stabili in soluzione acquosa e non devono essere tossiche. Per poter quindi aumentare la stabilità delle nanoparticelle e renderle maggiormente biocompatibili, queste sono state ricoperte con delle molecole organiche idrosolubili naturali (citrato di sodio e glucosio). Grazie a questo tipo di ricoprimento, le nanoparticelle potrebbero inoltre sfruttare l'avidità dei tumori per il glucosio, favorendo quindi l'accumulo delle nanoparticelle nell'ambiente tumorale e migliorando di conseguenza le proprietà di imaging e terapeutiche. Le nanoparticelle, ricoperte con citrato e glucosio attraverso l'innovativo utilizzo di un reattore a microonde, sono poi state caratterizzate tramite spettroscopia FT-IR per verificare l'effettivo ricoprimento e con analisi DLS per determinarne la grandezza e la stabilità.

Verona , 29/09/2021

Firma del Destinatario (assegnista) Emil Milan

Firma del Referente per la ricerca (prof. Speghini)

Firma del responsabile di progetto
(prof.ssa Marzola)

Paupina Marzola