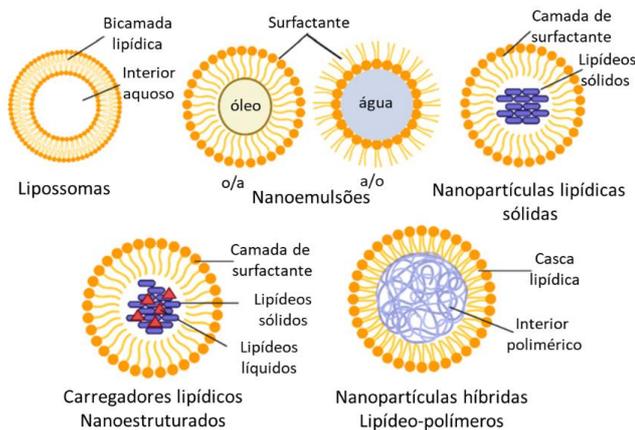


## Desenvolvimento e Caracterização de Nanopartículas Lipídicas para Aplicações Biomédicas

Orientação: Antonio Malfatti-Gasperini (LNLS)

### Introdução e estado da arte

Lipídeos polares desempenham papéis fundamentais na biologia celular devido às suas propriedades químicas únicas, caracterizadas pela presença de regiões hidrofílicas e hidrofóbicas em sua estrutura molecular. Essa anfifilia confere aos lipídeos a capacidade de se auto-organizarem em meio aquoso, formando uma grande variedade de estruturas. Além da relevância biológica, essas propriedades fazem dos lipídeos uma base promissora para aplicações tecnológicas em diferentes áreas, especialmente em nanobiotecnologia como carreadores de genes e fármacos. Estruturas baseadas em lipídeos – ou nanopartículas lipídicas (LNP), como lipossomas, micelas, emulsões lipídicas, nanopartículas lipídicas sólidas, híbridos lipídico-polimérico, dentre outros – se destacam por serem altamente adaptáveis e por demonstrar versatilidade ao encapsular e proteger diversos agentes terapêuticos, como pequenas moléculas e ácidos nucleicos [1]. Quando comparado à farmacologia tradicional, estes carreadores apresentam propriedades farmacológicas superiores; tanto aquelas comuns a todos os carreadores – como o aumento da solubilidade e eficácia dos medicamentos, regulação da liberação, alteração da



**Figura 1:** Esquema ilustrando os diversos tipos de estruturas de nanopartículas lipídicas usadas em sistemas de entrega de fármacos e genes. Adaptado da referência [1].

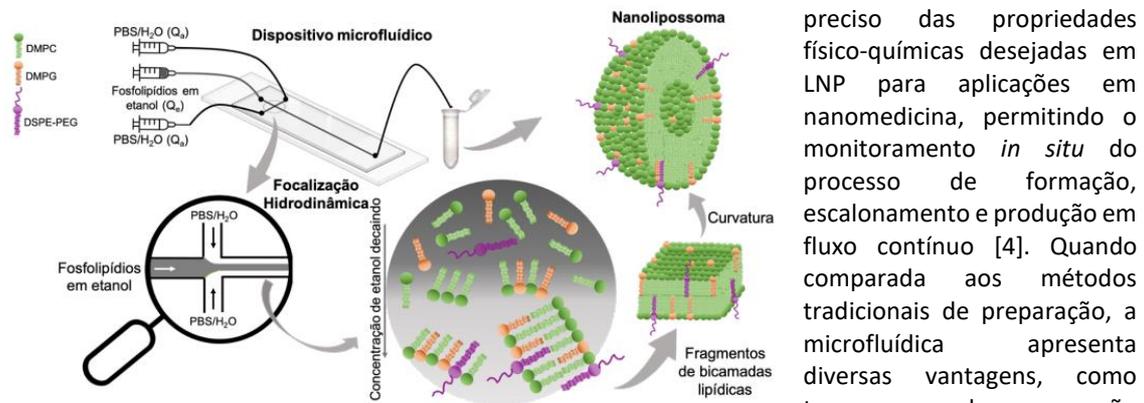
biodistribuição e proteção contra a degradação *in vivo* – quando aquelas intrínsecas ao uso dessas biomoléculas – como estabilidade em fluidos biológicos, biocompatibilidade, biodegradabilidade, além de não serem imunogênicos. Os diferentes ambientes químicos em sua estrutura também permitem encapsular fármacos hidrofílicos e hidrofóbicos. Estas propriedades superam várias das limitações encontradas nas terapias convencionais de administração de fármacos, como a baixa biodisponibilidade, efeitos colaterais fora do alvo e degradação enzimática. Exemplos de estruturas formadas por lipídeos estão mostradas Figura 1.

Devido às excelentes propriedades, além dos resultados terapêuticos notáveis, as LNP atraíram um interesse significativo nas áreas de ciência aplicada, principalmente por suas composições serem seguras com relação à toxicidade, sendo aprovadas pela FDA para utilização tanto em produtos alimentícios quanto farmacêuticos e cosméticos; isto faz com que produtos similares sejam mais facilmente aceitos para ensaios *in vivo* e para a inserção do produto no mercado. Até hoje, dezenas de drogas contendo carreadores lipídicos já foram aprovados pelo FDA para tratamentos de câncer, doenças infecciosas, controle da dor e degeneração relacionada à idade. Na emergência pandêmica de COVID-19, as LNP tiveram destacado papel na entrega de RNA mensageiro (mRNA) em vacinas inovadoras, como a Comirnaty® (Pfizer-BioNTech) e a Spikevax® (Moderna). Nesses casos, as LNP foram empregadas para encapsular o mRNA, protegendo-o contra degradação e permitindo sua liberação eficiente nas células-alvo, induzindo respostas imunológicas mais robustas. Essa abordagem não apenas demonstrou a eficácia das LNP no combate a uma emergência global, mas também abriu caminhos para o uso de tecnologias baseadas em ácidos nucleicos em outras áreas. Além de vacinas, as LNP também têm sido exploradas em terapias gênicas e tratamentos direcionados para doenças raras e complexas [2].

Embora seja inegável o sucesso das LNP, seu avanço depende de melhorias contínuas em seu desenvolvimento quanto à sua composição, funcionalidade e métodos de produção. Apesar de serem auto-organizáveis em meio aquoso, a estrutura formada irá depender da composição dos lipídeos e,

portanto, de variáveis intrínsecas como a carga da cabeça polar, número, tamanho e saturação das caudas hidrofóbicas, relação entre as áreas transversais cabeça/cauda, tipo de solvente e processo de preparação. Algumas propriedades, porém, podem ser controladas e fabricadas de acordo com o propósito de aplicação. As LNP podem ser decoradas com uma série de moléculas funcionais que podem dar desde um caráter furtivo às LNP quanto direcioná-las para alvos específicos [3]. Entretanto, a organização espontânea não é eficiente no que diz respeito ao tempo de preparação, homogeneidade dos sistemas e aproveitamento dos materiais. A maioria das técnicas comumente utilizadas para a produção de LNP requer uma ou mais etapas para homogeneização das partículas formadas. Nos últimos anos, muitos trabalhos têm sido voltados para desenvolver técnicas que diminuam o número de etapas e processos que demandam tempo nos protocolos de produção.

O uso de sistemas microfluídicos na produção de LNP supera grande parte destes desafios associados às abordagens convencionais. A microfluídica é uma ferramenta tecnológica multidisciplinar, baseada na manipulação de pequenas quantidades de fluídos em canais com dimensões micrométricas. Esta tecnologia oferece um controle excepcional sobre o fluxo dos fluídos, além de utilizar de forma bastante eficiente materiais, reagentes e energia. Ela tem demonstrado grande potencial para garantir controle



**Figura 2:** Processo de formação de lipossomas em dispositivos microfluídicos. Fonte: [5]

preciso das propriedades físico-químicas desejadas em LNP para aplicações em nanomedicina, permitindo o monitoramento *in situ* do processo de formação, escalonamento e produção em fluxo contínuo [4]. Quando comparada aos métodos tradicionais de preparação, a microfluídica apresenta diversas vantagens, como tempos de reação significativamente mais rápidos, dispositivos com dimensões mínimas, menos consumo de amostras e reagentes, controle preciso dos fenômenos de transferência térmica e mássica, baixo consumo e dissipação de energia, além de um custo relativamente reduzido por dispositivo. A Figura 2 ilustra o processo de formação de *lipossomas* via dispositivos microfluídicos já desenvolvidos por nosso grupo de pesquisa.

Entender a estrutura e correlacioná-la com o processo de preparação e com os mecanismos de ação é essencial para o controle e funcionalização dos sistemas lipídicos. Como as propriedades estruturais de cada bloco que compõe as LNP antes e depois da incorporação de fármacos, genes ou nanopartículas são de vital importância para a predição da estrutura e estabilidade finais do sistema, métodos de caracterização da estrutura molecular tornam-se indispensáveis para o estudo de seleção de protocolos de aplicação industrial. Dentre as ferramentas que mais se desenvolveram nos últimos anos, destacam-se principalmente as técnicas baseadas em luz síncrotron, como espalhamento (SAXS) e difração (XRD) de raios X. Estas técnicas podem ser usadas tanto da maneira convencional quanto em seu modo espectroscópico, usufruindo das propriedades coerentes da fonte de raios X (XPCS – X-ray Photocorrelation Spectroscopy). O apelo destas técnicas é que são poucas aquelas que podem dar informações sobre a estrutura e dinâmica de sistemas da matéria mole e biológica com tanta precisão, dando informações sobre uma grande porção da amostra e sem alterar significativamente sua natureza. Com elas é possível investigar não somente o estágio final do processo de produção, mas também a evolução estrutural de nanoagregados durante sua formação e durante sua interação com membranas biológicas, obtendo informações em tempo real destes processos.

A linha de luz Sapucaia, do SIRIUS, é dedicada a experimentos de espalhamento de raios X a baixos ângulos (SAXS). SAXS é uma técnica muito bem estabelecida, usada para estudar as propriedades morfológicas e dinâmicas de objetos nano e microestruturados. O poderio da fonte SIRIUS aliado à

versatilidade da linha Sapucaia permitirá a realização de experimentos que fornecerão informações sobre a estrutura e organização das LNP formadas.

## Objetivos

O projeto tem como objetivo correlacionar a estrutura molecular com os processos de produção e resultados de estabilidade e eficiência como carreadores de genes e fármacos. As propriedades estruturais das LNP, antes e depois da incorporação de fármacos, moléculas bioativas ou nanopartículas, são de grande importância para prever seu desempenho como carreadores. De modo geral, o aluno irá:

- Investigar como as condições de síntese afetam a estrutura nano e mesoscópica das LNP;
- Entender como a introdução de moléculas e nanopartículas durante ou após a preparação das LNP afetam sua estrutura e estabilidade.

## Metodologia

O desenvolvimento deste projeto será feito algumas etapas. Inicialmente, o aluno irá fabricar os dispositivos microfluídicos no Laboratório de Microfabricação (LMF) do LNNano. Os dispositivos serão usados para formar as diferentes LNP, que serão estudados usando técnicas convencionais de caracterização, como espalhamento dinâmico de luz (DLS), potencial Zeta e calorimetria diferencial de varredura (DSC). Otimizadas estas etapas, algumas amostras escolhidas serão estudadas usando a técnica de SAXS na linha de luz Sapucaia. Por fim, serão produzidas e estudadas LNP carregadas com nanopartículas e/ou biomoléculas em seu interior.

## Cronograma

	3º trimestre 2025	4º trimestre 2025	1º trimestre 2026	2º trimestre 2026
Fabricação de dispositivos microfluídicos no LNNano	██████████			
Otimização das condições de síntese das LNP		██████████		
Estudo estrutural usando a linha Sapucaia			██████████	
Estudo das LNP carregadas com NPs e/ou biomoléculas			██████████	
Finalização do projeto e escrita do relatório				██████████

## Público-alvo

Este projeto é voltado para alunos que estejam pelo menos no quarto período (segundo ano) de cursos de graduação das áreas de: Física, Química, Engenharias (Química, Física, de Alimentos) e áreas correlatas.

## Referências

[1] Mehta M et al. "Lipid-Based Nanoparticles for Drug/Gene Delivery: An Overview of the Production Techniques and Difficulties Encountered in Their Industrial Development" *ACS Mat. Au* **2023** 3:600:619; doi: 10.1021/acsmaterialsau.3c00032

[2] Kim SM et al. "Cancer-derived exosomes as a delivery platform of CRISPR/Cas9 confer cancer cell tropism-dependent targeting", *J. Controlled Release* **2017** 266:8-16; doi: 10.1016/j.jconrel.2017.09.013

[3] Elkhoury K et al. "Engineering Smart Targeting Nanovesicles and Their Combination with Hydrogels for Controlled Drug Delivery", *Pharmaceutics* **2020** 12:849; doi: 10.3390/pharmaceutics12090849.

[4] Dimov N et al. "Formation and purification of tailored liposomes for drug delivery using a module-based micro continuous-flow system", *Scientific Reports* **2017** 7:1; doi: 10.1038/s41598-017-11533-1.

[5] da Costa OMMM. "Produção de Nanolipossomas com Alto Potencial para a Nanomedicina por Dispositivo Microfluídico de Focalização Hidrodinâmica" **2021** Tese (Doutorado) UFPE