

# La doppia vita delle particelle Janus



La struttura bifronte, proprio come il dio romano Giano, con diverse caratteristiche chimico-fisiche e funzionalità permette una grande versatilità d'uso di questo tipo di micro-particelle. Le esploriamo con l'aiuto di Roberto Piazza del Politecnico di Milano, che non nasconde le sue perplessità sui possibili usi in campo farmacologico

La divinità romana Giano guardava con una delle sue facce al passato, con l'altra al futuro: simbolo delle trasformazioni e dei nuovi inizi. Se ne ritrova memoria nel mese di gennaio, che da esso prende nome e dà vita al nuovo anno. Giano era anche il guardiano delle porte di accesso, una caratteristica che aiuta a comprendere appieno le molte potenzialità delle particelle Giano ("Janus" in inglese), che dalla sua doppia essenza traggono ispirazione. «Guardando alle particelle Janus, vediamo come l'espressione "nanotecnologie" venga spesso usata in modo abbastanza improprio: se la dimensione di questi oggetti è 0,9 micron - cioè 900 nm - è davvero nano?», si chiede il docente di Fisica statistica del Politecnico di Milano **Roberto Piazza**. «Un oggetto davvero "nano", almeno da un punto di vista biomedico, dev'essere a mio parere in grado di entrare direttamente in circolo nel sangue, quindi con dimensioni dell'ordine dei 100 nm o minori».

## Una sfera a due facce

Le particelle Giano possono essere equiparate a una sfera divisa in due metà, ciascuna delle quali caratterizzata da composizione e proprietà chimico-fisiche, elettroniche, ottiche e/o meccaniche anche sensibilmente diverse rispetto alla controparte. Sono oggetti completamente diversi, per composizione, struttura e funzioni, rispetto ai *quantum dots*.

«Le particelle Giano sono state sviluppate come strutture modello per la scienza dei colloidali.

L'esempio più semplice per ottenere queste particelle, corrispondente al metodo usato all'inizio per la loro preparazione, è prendere normali particelle sferiche colloidali e depositarle su una superficie come mostrato. A questo punto vi si deposita sopra un fascio di atomi metallici in fase di vapore, che va a coprire solo la metà superiore, la testa che scherma dal fascio la parte inferiore», spiega Piazza (Figura 1). Ne risulta un comportamento del tutto particolare, finanche opposto sulle due metà (ad esempio in termini di idrofilicità/idrofobicità, carica elettrica, ecc.).

La grande flessibilità così ottenuta rende le particelle Giano potenzialmente molto versatili anche in campo biomedicale, dove non mancano in letteratura gli esempi di loro utilizzo per la veicolazione sito-specifica di farmaci, geni o vaccini, e in campo diagnostico (si rimandano i lettori interessati alla bibliografia in calce). «All'inizio sono state usate soprattutto per investigare il cosiddetto "moto attivo", ossia per cercare d'imitare il modo con cui si muovono gli oggetti biologici. Una particella con questa natura ambivalente messa in un solvente in presenza, ad esempio, di qualcosa che reagisca con la parte metallica, come l'acqua ossigenata, dà luogo a una reazione di scambio solo su metà della superficie. È come se la particella si auto-propellesse in una certa direzione nel mezzo, anziché dar luogo al normale moto browniano disordinato tipico delle particelle in sospensione, sfruttando una fonte di energia interna per muoversi un po' come un batterio. Il fatto che le particelle abbiano due facce di tipo diverso, inoltre, fa sì che interagiscano e si organizzino in modo del tutto speciale, mostrando ad esempio un comportamento di fase diverso da quello delle particelle con una struttura uniforme».

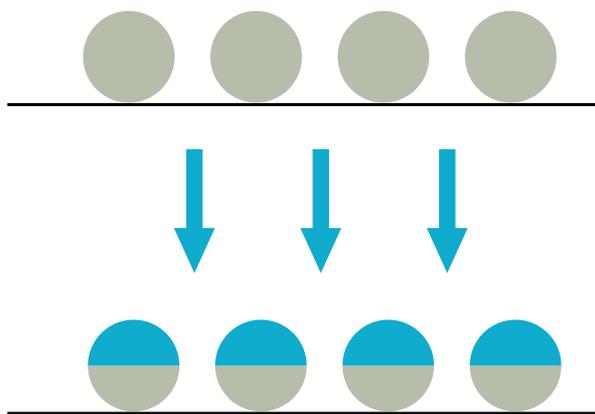


Figura 1 - Schema di preparazione delle particelle Janus mediante deposizione

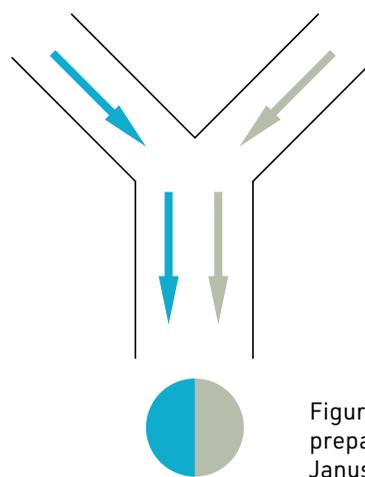


Figura 2 - Schema di preparazione delle particelle Janus per via microfluidica

## Strutture molecolari anisotrope

L'anisotropia è la principale proprietà delle nanoparticelle Giano, ovvero il fatto che le loro caratteristiche e comportamento dipendano dalla direzione specifica rispetto alla quale vengono osservate. «In questo caso è una forma semplice di anisotropia. Una tecnica efficace per realizzare questo tipo di particelle bifronti è per via microfluidica: si utilizzano due flussi di monomeri diversi che si uniscono all'interno del circuito microfluidico. Le dimensioni molto piccole del canale fanno sì che in realtà questi due flussi rimangano separati anche quando si incontrano, perché il moto non è vorticoso e quindi si potrebbero miscelare solo coi tempi lunghi della diffusione. Questo flusso uniforme può venire trasformato in gocce che hanno una faccia di un monomero e l'altra dell'altro». Le gocce vengono quindi polimerizzate, ottenendo

## GLI ESEMPI APPLICATIVI NEL DRUG DELIVERY

La caratteristica biface delle particelle Janus fa sì che esse mostrino nei sistemi biologici un comportamento diverso rispetto alle tradizionali particelle uniformi. Ciò può essere sfruttato per modulare diversi tipi di processi anche *in vivo*, dall'*uptake* cellulare all'attivazione di specifici recettori, fino alla possibilità di visualizzare i movimenti dei composti d'interesse. Le particelle Janus sono state

ampiamente studiate quali veicoli per il *drug delivery*, anche di terapie di combinazione, con coniugazione di due diversi principi attivi sulla stessa particella, o come agenti teranostici qualora siano presenti contemporaneamente residui ad azione terapeutica e diagnostica. Esempi tipici di applicazione in campo farmacologico potrebbero vedere, ad esempio, metà della particella veicolare un API

idrofobico e l'altra legare un composto idrofilico; il pattern di rilascio può venire controllato sulla base delle condizioni specifiche dei rispettivi siti d'azione o della diversa cinetica di rilascio dei due farmaci. A seconda dei materiali utilizzati per la costruzione dei compartimenti che trasportano le sostanze medicinali, il rilascio può avvenire in seguito a variazioni di pH, forza ionica o temperatura, irraggiamento

così le particelle Janus (Figura 2). Un esempio citato da Roberto Piazza è quello di particelle con una faccia bianca e l'altra nera, ottenute utilizzando per un lato polistirolo puro e per l'altro lo stesso polimero drogato in modo tale da apparire molto scuro.

«Le dimensioni delle particelle così ottenute sono sempre dell'ordine di qualche micron: siamo nel mondo delle microtecnologie. Nel tempo si sono sviluppati metodi per preparare particelle Janus con strutture sempre più ricche e interessanti, ad esempio a partire da un'emulsione che contenga due tipi di polimeri e inducendo una specie di separazione di fase tra i due, che faccia sì che un pezzo di un polimero venga "espulso" dalla particella. In questo modo si ottengono le cosiddette particelle "snowmen", che assomigliano a pupazzi di neve». Questo è solo un esempio della grande flessibilità strutturale di questi oggetti, che si traduce in un altrettanto grande variabilità delle forme, geometrie e composizioni; le forme a manubrio (*dumbbell-like*) o simili a piastrine (*platelet-like*) sono altri possibili esempi di geometrie che possono assumere le particelle Janus. Esempi di strutture utilizzate per applicazioni biomediche includono micelle di copolimeri a blocchi, liposomi, dendrimeri, oltre che diverse morfologie (es. cilindrica, sferica o a disco).

### Tre grandi gruppi di Janus particles

Citate per la prima volta nel 1991 da **Pierre-Gilles de Gennes** durante la *lecture* per la consegna del premio Nobel, le particelle Janus si sono molto evolute da allora e la loro sintesi può oggi utilizzare una grande varietà di materiali di partenza dotati di diverse proprietà da accoppiare tra loro, tra cui metalli, lipidi, polimeri, e anche acidi nucleici o proteine. Si possono identificare in termini generali tre grandi categorie di particelle Janus, a seconda che abbiano una composizione inorganica (*hard*), organica o polimerica (*soft*) o ibrida tra le due. L'ottenimento dell'effetto desiderato deve basarsi su un'attenta progettazione, sia in termini di forma e dimensioni che di proprietà quali carica, porosità o proprietà meccaniche.

La complessità di questo tipo di costrutto fa sì che un piccolo cambiamento in una sua parte vada a influenzare l'intera particella.

«Un altro modo per ottenere particelle con dimensioni sotto il micron è indurre la formazione di dimeri. Si utilizzano ad esempio polimeri di partenza funzionalizzati di modo da potersi accoppiare; si possono usare a tal fine anticorpi, e nelle applicazioni più raffinate anche DNA. Li si combina in modo tale che si possano accoppiare solo due alla volta, a formare una specie di dimero fatto metà di un materiale, metà dell'altro. È uno

con calore o luce UV o nel vicino IR. Esempi applicativi in tal senso hanno visto l'accoppiamento di due molecole antitumorali dalle caratteristiche chimico-fisiche profondamente diverse, come il paclitaxel e la doxorubicina, o di quest'ultima con l'antinfiammatorio ibuprofene, utilizzando geometrie *dumbbell-like* e *snowman-like* ottenute a partire dai polimeri 2-dimetilamminoetilammino

metacrilato (DMAEMA) e poli(2-idrossietil metacrilato) monodisperso (PHEMA). Particelle Giano a base di leghe oro-nichel sono state studiate anche per il trasporto di geni terapeutici o vaccini senza utilizzo di vettori virali. Il rilascio dell'agente medicinale al sito di azione può essere monitorato funzionalizzando la particella con un opportuno mezzo di contrasto, che può venire evidenziato mediante

risonanza magnetica nucleare, tomografia Tac o altre metodiche diagnostiche.

Un altro esempio in campo biomedico è rappresentato dalla possibilità di guidare le particelle al sito d'azione desiderato, dove rilasciare il farmaco o il mezzo diagnostico, mediante luce o campi elettromagnetici esterni. Sono però ancora pochi gli esempi di studi *in vivo* sulle proprietà delle particelle Giano.

dei metodi più usati, e che funziona discretamente bene», racconta il docente del Politecnico.

Altre metodiche descritte in letteratura per la preparazione delle particelle Giano includono tecniche di mascheramento, auto-assemblaggio, nucleazione superficiale, *seeded growth*, formazione di emulsioni tramite *pickering*, elettrospinning. Tra i molti polimeri che possono venire utilizzati per ottenere compartimenti diversi figurano, ad esempio, il poli(etilenoossido) o il poli(acrilammide-co-acido acrilico), copolimeri crosslinkati e vari materiali biocompatibili, come vari tipi di polisaccaridi (destrano, chitosano, alginati, pectine, cellulosa, eparina, ecc.), di polipeptidi o di polimeri quali l'acido polilattico o il policaprolattone.

L'utilizzo di alcune di queste sostanze può dar luogo a comportamenti liotropici, con formazione di compartimenti di cristalli liquidi ordinati, o a regioni lipidiche con differenti geometrie (es. cubiche, a diamante, esagonali, ecc.).

Spesso le particelle Giano contengono anche metalli pesanti o loro ossidi (es. Au, Ag, Cu, Pt, Ni, Yb, Tm, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, NaGdF<sub>4</sub>, silice mesoporosa), che possono venire funzionalizzati anche con DNA, mRNA o anticorpi.

Le particelle Giano ibride polimerico-inorganiche offrono il vantaggio di un miglior controllo della loro crescita anisotropica. Le caratteristiche molto

peculiari di questo tipo di materiale possono anche venire sfruttate per facilitarne il recupero e il riciclo dopo l'utilizzo, ad esempio mediante interazione della parte metallica con campi magnetici o immobilizzazione su supporti enzimatici o inerti.

### Le perplessità di un utilizzo in campo farmacologico

«Le applicazioni delle particelle Giano come modelli per la ricerca di base nel campo dei cosiddetti "materiali soffici" sono tantissime e molto interessanti. Pensare però ad applicazioni di carattere biomedico richiede tuttavia, almeno a mio parere, qualche acrobazia. Diversi lavori affermano con tono roboante di aver prodotto particelle Janus che possono essere utilizzate come *drug carrier* "duplici", caricando un farmaco all'interno di una faccia della particella, un altro farmaco o un mezzo di contrasto per *l'imaging* all'interno dell'altra.

Tuttavia questi *claim* si rivelano spesso, parafrasando Shakespeare, "molto rumore per nulla", dato che la frazione di questi tentativi che riesce a superare lo stadio di studio pilota, generando reali tecnologie applicabili a livello industriale con costi contenuti, è davvero piccola. Pensiamo ai vaccini, alle particelle che li potrebbero trasportare in modo "coperto" resistendo al sistema

immunitario e permettendo il *delivery* locale del vaccino: se si va a vedere, i vaccini che funzionano sono direttamente di carattere genetico o di natura virale, in quanto queste strutture si sono evolute molto meglio rispetto alla nostra capacità di fare particelle di questo tipo».

Roberto Piazza è scettico sui possibili utilizzi di tipo farmacologico delle particelle Giano, a causa di un fattore dimensionale (superano i 50-100 nm di grandezza) che le renderebbe scarsamente utili in quanto non potrebbero sfruttare i meccanismi di trasporto diretto a livello plasmatico.

**Secondo il parere di Roberto Piazza, le possibili applicazioni delle particelle Giano come modelli per la ricerca di base nel campo dei “materiali soffici” sono tantissime e molto interessanti: sarebbe però un errore pensare a uno sfruttamento immediato di carattere biomedico**

Se l'obiettivo finale è disporre di un sistema a doppia funzionalità in un unico oggetto, per il fisico del Politecnico di Milano è molto più semplice usare, ad esempio, i co-polimeri a blocchi, già ampiamente diffusi anche in campo farmacologico e che permettono un livello di sintesi chimica e di controllo molto maggiore. «Facendo autocritica, dico che secondo me manca la visione industriale, queste

cose sembrano essere più “giochini” dei fisici o degli ingegneri. Un aspetto per me fondamentale è che in un medicinale non conta solo il principio attivo, ma anche la forma che assume e con cui è somministrato», sottolinea Piazza.

Il ricorso a polimeri particolari, spesso auto-aggreganti, è uno dei perni della moderna scienza formulativa, che permette la messa a punto di strategie sempre più raffinate di rilascio controllato nel tempo e mirato in modo specifico ai diversi distretti dell'apparato gastrointestinale. Roberto Piazza ricorda, ad esempio, come il ricorso alle microemulsioni per il trasporto delle ciclosporine abbia permesso di ridurre di molto i dosaggi e il rigetto nei pazienti sottoposti a trapianto.

«I materiali auto-aggreganti rappresentano un modo d'imitare quello che fanno i sistemi biologici, le membrane cellulari; si tratta sempre di aggregazione di molecole anfifiliche.

Da questo punto di vista, ci sono molti esempi di realizzazione di strutture sempre più ricche, la

scienza va sempre promossa. La cosa un po' triste è che oggi si debbano fare *claim* su cose che non si riuscirà a realizzare perché questo è l'unico modo per finanziare una ricerca. Mi piace spesso ricordare una frase di Louis Pasteur, secondo il quale non esisteva la “scienza applicata”, ma solo le applicazioni della scienza, cosa ben diversa. Secondo me è una delle frasi miliari della storia del rapporto tra scienza, realtà e applicazione industriale. Se la scienza è buona, arrivano anche buone applicazioni, ma non bisogna necessariamente richiedere alla scienza di essere applicativa. E, purtroppo, sta diventando un mondo di questo tipo. Credo che tra le due cose, i *quantum dots* e le particelle Giano, queste ultime cerchino semplicemente di replicare quella che è la struttura di molte molecole biologiche che hanno regioni con diversa funzionalità. I *quantum dots*, invece, offrono qualcosa che normalmente non si trova in natura. Se si riescono a superare i problemi di carattere tossicologico, da un punto di vista prospettico i *qdots* potrebbero permettere di unire due mondi, quello della fisica quantistica avanzata e quello dell'utilizzo di queste strutture non banali in chimica e biochimica», conclude Roberto Piazza, a suggello di questo lungo viaggio tra due mondi invisibili e in rapida evoluzione.

## Riferimenti

1. T.C. Le et al., *Int J Nanomed.* 2019;14 6749–6777, <http://doi.org/10.2147/IJN.S169030>
2. Y. Yi et al., *Analyst.* 2016 June 21; 141(12): 3526–3539. [doi:10.1039/c6an00325g](http://doi.org/10.1039/c6an00325g)
3. H. Su et al., *Materials Today Bio*, 4 (2019), 100033, <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2019.100033>
4. Poggi, E. et al., *Colloid Polym Sci* 295, 2083–2108 (2017), <https://doi.org/10.1007/s00396-017-4192-8>
5. Z. Rahiminezhad et al., *Applied Materials Today*, 18 (2020), 100513, <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2019.100513>
6. Y. Yi et al., *Chem Mater*, 2017, 29:1448–1460. [doi: 10.1021/acs.chemmater.6b05322](http://doi.org/10.1021/acs.chemmater.6b05322)
7. C. Marschelke et al., *Colloid and Polymer Science* (2020) 298:841–865, <https://doi.org/10.1007/s00396-020-04601-y>
8. S. Kohee et al., *Design and Development of New Nanocarriers* 2018, 145–180, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813627-0.00004-1>
9. Y.R. Indalkar, *Current Pharma Research* 3 (4), 2013, 1031–1037
10. E. Dehghani et al., *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 170, 2018, 85–91, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.05.067>