

Nanopartículas proteicas: síntese induzida por radiação ionizante em substituição aos métodos convencionais

Victória Martins Alves e Ademar Benévolo Lugão
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN

INTRODUÇÃO

A albumina é a proteína mais abundante no plasma humano e serve como um importante nutriente no corpo humano, sendo uma fonte endógena de aminoácidos (Lei et al., 2021). A albumina tem papéis importantes, incluindo a regulação da pressão oncótica do sangue, assim como o transporte e distribuição de íons bivalentes, hormônios, bilirrubina, esteróides, e ácidos graxos (Tan & Ho, 2018).

A albumina vem emergindo como uma plataforma para entrega de drogas versátil devido a sua boa biocompatibilidade, não toxicidade e não imunogenicidade (Qu et al., 2019).

O método mais comum para a síntese de nanopartículas de albumina é a desolvatação. Em resumo, as NPs de albumina são precipitadas pelo enfraquecimento e remoção da camada de solvatação por meio de agentes desidratantes como o etanol. Depois, as NPs são mais densificadas e estabilizadas através da reticulação química. E, por fim, é realizada uma purificação para a remoção do solvente orgânico e o agente de reticulação (Lei et al., 2021).

Na busca de um método mais sustentável (*green nanotechnology*), outras vias de síntese estão sendo exploradas, como a síntese radiolítica, que permite o controle adequado do processo de *crosslinking* sem necessidade de agentes redutores (de Freitas et al., 2018). Além da vantagem de não gerar resíduos, outras vias que não utilizam esses solventes também podem manter a integridade e a atividade biológica da albumina, minimizando a ocorrência de problemas de imunorreatividade no corpo humano (Qu et al., 2019).

Por ser uma proteína natural, a albumina é derivada de várias fontes. As mais usadas são a albumina do soro humano (HSA) e albumina do soro bovino (BSA). Neste trabalho, a albumina usada foi a albumina do soro bovino. A BSA é o maior componente no soro bovino, tem um pI de 4,7 e possui uma estrutura proteica altamente polar, com ligações de hidrogênio formadas por grupos amino e carbonila (Lei et al., 2021).

OBJETIVO

O objetivo principal do trabalho é o estudo da síntese e caracterização de sistemas nanométricos baseados em albumina para carreamento de drogas e/ou radionuclídeos diagnósticos através de síntese induzida por radiação ionizante, em substituição aos métodos convencionais.

METODOLOGIA

Síntese das Nanopartículas

As nanopartículas foram sintetizadas nas concentrações 0,5, 2,5, 5, 7,5 e 10 mg/mL, com 30% de etanol (v/v), em tampão fosfato (50mM), todos em atmosfera de NO e sob banho de gelo, segundo a técnica de Varca et. al (2014 e 2016). Após a homogeneização e repouso por 6 horas em refrigerador, as amostras foram submetidas ao processo de irradiação.

Irradiação

A irradiação foi realizada no Centro de Tecnologia das Radiações (CETER-IPEN) no Irradiador Multipropósito de Cobalto-60 variando a dose de 10 a 20 kGy. As amostras foram mantidas refrigeradas em recipiente isolante térmico.

Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

As análises por espalhamento dinâmico de Luz foram realizadas em um Litesizer 500 (Anton Paar, AT) por 10 segundos à 25 °C utilizando ângulo automático.

RESULTADOS

As nanopartículas de albumina foram analisadas por espalhamento dinâmico de luz. Os gráficos ilustram a variação do tamanho hidrodinâmico das nanopartículas em relação à concentração de albumina nas diferentes doses de radiação. Também foi realizado um teste *t student*, para verificar se havia diferença significativa dos tamanhos das nanopartículas formadas nas diferentes doses testadas no projeto. Comparando as diferentes doses na concentração de 0,5 mg/mL não foi possível verificar diferença significativa no tamanho das nanopartículas ($P > 0,05$). Nas outras concentrações também não há uma diferença significativa, com exceção da concentração de 1 mg/mL na dose de 20 kGy, que apresenta um tamanho hidrodinâmico menor do que nas outras doses.

Avaliando o teste t, foi possível verificar que entre as doses 10 e 15 kGy e entre 10 e 20 kGy não houve variação significativa, com $p < 0,05$. No entanto, a comparação das doses 15 e 20 kGy apresenta um $p > 0,05$, ou seja, estatisticamente, existe uma diferença significativa entre as doses.

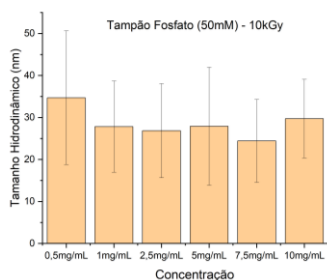


Figura 1: Tamanho hidrodinâmico de nanopartículas de albumina sintetizadas em tampão Fosfato 50mM e dose de 10kGy

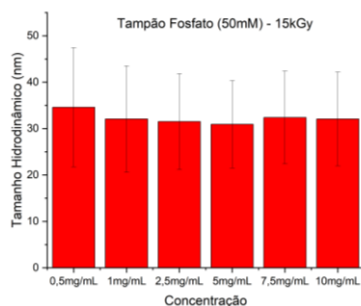


Figura 2: Tamanho hidrodinâmico de nanopartículas de albumina sintetizadas em tampão Fosfato 50mM e dose de 15kGy

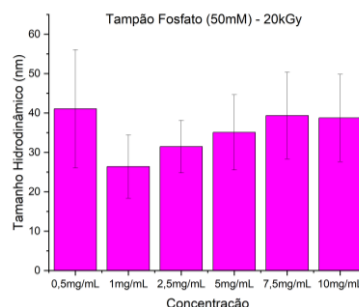


Figura 3: Tamanho hidrodinâmico de nanopartículas de albumina sintetizadas em tampão Fosfato 50mM e dose de 20kGy

CONCLUSÕES

Conclui-se que a variação das doses e da concentração de albumina não influenciou significativamente o tamanho das nanopartículas. Portanto, mais experimentos serão necessários para o entendimento dos resultados obtidos, como o aumento na variação das doses e otimização da síntese.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- de Freitas, L. F., Varca, G. H. C., Batista, J. G. D. S., & Lugão, A. B. (2018). An Overview of the Synthesis of Gold Nanoparticles Using Radiation Technologies. *Nanomaterials*, 8(11). <https://doi.org/10.3390/NANO8110939>
- Lei, C., Liu, X. R., Chen, Q. B., Li, Y., Zhou, J. L., Zhou, L. Y., & Zou, T. (2021). Hyaluronic acid and albumin based nanoparticles for drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 331, 416–433. <https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2021.01.033>
- Qu, N., Sun, Y., Li, Y., Hao, F., Qiu, P., Teng, L., Xie, J., & Gao, Y. (2019). Docetaxel-loaded human serum albumin (HSA) nanoparticles: synthesis, characterization, and evaluation. *BioMedical Engineering OnLine*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/S12938-019-0624-7>
- Tan, Y. L., & Ho, H. K. (2018). Navigating albumin-based nanoparticles through various drug delivery routes. *Drug Discovery Today*, 23(5), 1108–1114. <https://doi.org/10.1016/J.DRUDIS.2018.01.051>
- Varca, G. H. C., Queiroz, R. G., & Lugão, A. B. (2016). Irradiation as an alternative route for protein crosslinking: Cosolvent free BSA nanoparticles. *Radiation Physics and Chemistry*, 124, 111–115. <https://doi.org/10.1016/J.RADPHYSICHEM.2016.01.021>

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO
CNPq