



**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**  
**Autarquia Associada à Universidade de São Paulo**

**Avaliação de nanopartículas proteicas radiomarcadas dirigidas a tecidos  
tumoriais como agentes diagnósticos**

**ARYEL HEITOR FERREIRA**

**Tese apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do Grau de  
Doutor em Ciências na Área  
de Tecnologia Nuclear - Materiais**

**Orientador:  
Prof. Dr. Ademar Benévolo Lugão**

**São Paulo  
2020**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**  
**Autarquia Associada à Universidade de São Paulo**

**Avaliação de nanopartículas proteicas radiomarcadas dirigidas a tecidos  
tumoriais como agentes diagnósticos**

**Versão Corrigida**

**Versão Original disponível no IPEN**

**ARYEL HEITOR FERREIRA**

**Tese apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do Grau de  
Doutor em Ciências na Área  
de Tecnologia Nuclear - Materiais**

**Orientador:  
Prof. Dr. Ademar Benévolo Lugão**

**São Paulo  
2020**

## RESUMO

FERREIRA, A. H. ***Avaliação de nanopartículas proteicas radiomarcadas dirigidas a tecidos tumorais como agentes diagnósticos.*** 2020. 108 p. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo.

Recentes avanços em nanomedicina e nanotecnologia têm expandido o desenvolvimento de nanoestruturas multifuncionais que combinem especificidade e funções terapêuticas e de diagnóstico em complexos nanoestruturados, a fim de superar barreiras biológicas que podem dificultar a administração e a captação seletiva e eficaz de medicamentos e agentes diagnósticos em tecidos tumorais. Nanopartículas vêm sendo utilizadas em Medicina Nuclear como carreadores de radionuclídeos emissores de radiação gama ( $\gamma$ ) ou pósitron ( $+1\beta$ ) para imagens diagnósticas por PET, SPECT e emissores de partículas  $\alpha$  e  $-1\beta$  utilizados em endorradioterapia para destruir especificamente o tecido tumoral. O objetivo deste trabalho concentrou-se no estudo da marcação com Tecnécio-99m de nanopartículas de papaína e albumina, sintetizadas por reticulação induzida por radiação, e na caracterização de seus comportamentos *in vitro* e *in vivo*, de modo a desenvolver novos nanorradiofármacos e avaliar seu potencial para realização de diagnóstico de tumores mamários utilizando a técnica de medicina nuclear SPECT. Técnicas de microscopia eletrônica e espalhamento de luz evidenciaram formação de nanopartículas esféricas com dispersão de tamanho de  $9,3 \pm 1,9$  nm para as nanopartículas de papaína e  $25,1 \pm 2,9$  nm para as nanopartículas de albumina. Um elevado rendimento radioquímico ( $>90\%$ ) e estabilidade frente aos agentes transquelantes presentes no soro foram observados para ambas as nanopartículas até pelo menos 6h. A biodistribuição em animais saudáveis demonstrou diferentes perfis de excreção, sendo a  $^{99m}\text{Tc-P-NPs}$  excretada principalmente pelo rim, enquanto a  $^{99m}\text{Tc-BSA-NPs}$  é excretada principalmente por via hepática. Nos estudos *in vitro*, as nanopartículas mostraram-se promissoras com 74% e 57,6% da captação total em células MDA-MB231, respectivamente para  $^{99m}\text{Tc-P-NPs}$  e  $^{99m}\text{Tc-BSA-NPs}$ . Nos estudos *in vivo* verificou-se acentuada captação tumoral com boa visualização em imagens adquiridas em micro-SPECT/CT. Deste modo, as nanopartículas proteicas

utilizadas no corrente trabalho mostraram-se promissoras para serem utilizadas como sistema de veiculação de radionuclídeos diagnósticos para estudos de sua distribuição sistêmica, bem como de sua aplicação como traçador SPECT em tumores mamários.

**Palavras Chaves:** Nanorradiofármacos, nanocarreadores proteicos, nanopartículas de albumina, nanopartículas de papaína.

## ABSTRACT

FERREIRA, A. H. ***Avaliação de nanopartículas proteicas radiomarcadas dirigidas a tecidos tumorais como agentes diagnósticos.*** 2020. 108 p. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo.

Recent advances in nanomedicine and nanotechnology have expanded the development of multifunctional nanostructures which combine specificity, diagnostic and therapeutic functions in nanostructured complexes in order to overcome biological barriers that may hinder the selective and effective administration and uptake of drugs and diagnostic agents in tumor tissue. Nanoparticles have been used in nuclear medicine as nano-radiopharmaceuticals to carry PET and SPECT  $\alpha$ - and  $\beta$ -emitting radioisotopes used in endoradiotherapy to specifically destroy tumor tissue. The aim of the present work was the study of radiolabeling albumin (BSA-NPs) and papain (P-NPs) nanoparticles synthesized by gamma irradiation, with  $^{99m}\text{Tc}$  and characterize their *in vitro* and *in vivo* properties as potentially novel nano-radiopharmaceuticals. Electron microscopy and light scattering techniques show spherical shapes of nanoparticles and average diameter of  $9.3 \pm 1.9$  nm for P-NPs and  $25.1 \pm 2.9$  nm for BSA-NPs. The radiolabeling reached around 90% yield, and the  $^{99m}\text{Tc}$ -BSA-NPs showed stability for 24 h in all assayed conditions, while  $^{99m}\text{Tc}$ -P-NPs presented stability for 6 h in human serum. The biodistribution studies in healthy animals have shown different excretion profiles,  $^{99m}\text{Tc}$ -P-NPs featured a renal excretion. On the other hand the  $^{99m}\text{Tc}$ -BSA-NPs were found in the liver and spleen to a larger extent, undergoing hepatic excretion. *In vitro* studies showed promising internalization rates for both nanoparticles with 74% and 57.6% of total uptake in MDA-MB231 cells, respectively for  $^{99m}\text{Tc}$ -P-NPs and  $^{99m}\text{Tc}$ -BSA-NPs. *In vivo* studies in micro-SPECT/CT images also showed a high tumor uptake for both nanoparticles. The autoradiographic studies and immunohistochemistry assays revealed a high density of both papain and BSA nanoparticles in peripheral regions of tumor tissue and confirmed the efficacy of the developed nano-radiopharmaceuticals for targeting breast cancer.

---

---

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**  
Diretoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Ensino  
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 – Cidade Universitária CEP: 05508-000  
Fone/Fax(0XX11) 3133-8908  
SÃO PAULO – São Paulo – Brasil  
<http://www.ipen.br>

O IPEN é uma Autarquia vinculada à Secretaria de Desenvolvimento, associada à Universidade de São Paulo e gerida técnica e administrativamente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear, órgão do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações.

---

---

---