

Título em Português:	Estudo de formação de coronas de surfactante pulmonar e mucina em nanopartículas de sílica em condições de hiperinflamação
Título em Inglês:	Study of formation of biomolecular coronas of lung surfactant and mucin on silica nanoparticles under conditions of hyperinflammation
Autor:	Igor dos Santos Pedriz
Instituição:	Universidade de São Paulo
Unidade:	Instituto de Física de São Carlos
Orientador:	Leonardo Miziara Barboza Ferreira
Área de Pesquisa / SubÁrea:	Biofísica Molecular
Agência Financiadora:	CNPq - PIBIC

Estudo de formação de coronas de surfactante pulmonar e mucina em nanopartículas de sílica em condições de hiperinflamação.

Igor dos Santos Pedriz

Dr. Leonardo Miziara Barboza Ferreira

Prof. Dr. Valtencir Zucolotto

Colaboradora: Bianca Martins Estevão

Objetivos

O objetivo central do estudo é caracterizar e compreender os processos que ocorrem na formação de coronas biomoleculares da proteína mucina e do fosfolípido dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) em nanopartículas de sílica, com diferentes cargas superficiais (-OH, -NH₂ e COOH) além de sintetizar os nanocompósitos revestidos pela corona.

Métodos e Procedimentos

As nanopartículas (MCM-41 ou SiNPs-OH) foram primeiramente sintetizadas a partir de uma adaptação do método empregado por Trens e colaboradores.^[1] A partir da MCM-41, duas modificações pós condensação foram empregadas, uma direta para SiNPs-NH₂^[2] e outra indireta, que após processamento com ácido sulfúrico, obtém-se as SiNPs-COOH.^[3]

Para confirmação da funcionalização, tanto análises de DLS/Zeta como de espectros com FTIR foram realizadas para constatar o sucesso da síntese. Diluições de 10⁻¹ e 10⁻², realizadas em tampão acetato (TA) pH 4.5 hiperinflamação e tampão fosfato (TF) pH 7.4 sadio, foram realizadas.

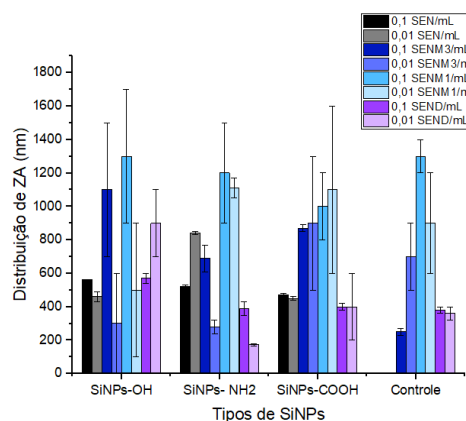
As nanopartículas com corona foram preparadas, para cada grupamento. Para formação de corona protéica, duas concentrações de mucina (0.05mg/mL e 0.15mg/mL) foram empregadas.^[4] Em

relação a corona lipídica, a concentração de 0.734mg/mL do fosfolípido DPPC foi empregada.^[5] Amostras de controle foram preparadas seguindo os mesmos procedimentos, mas sem a adição das nanopartículas.

Resultado

As figuras 1 e 3 indicam os valores médios para o tamanho (ZA, do Inglês Z-average) das nanopartículas, enquanto que as figuras 2 e 4 exibem os valores de potencial Zeta (ZP) para as mesmas

Figura 1: Tamanho médio (ZA) em pH 4.5.

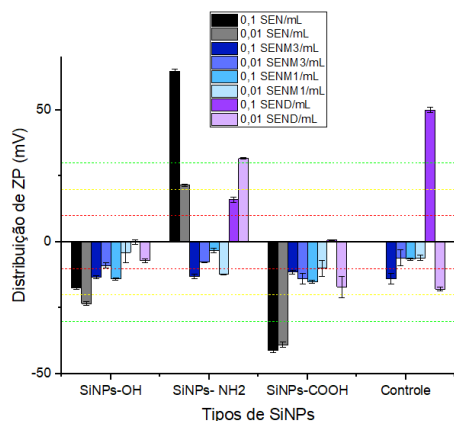


Fonte: Elaborado no software Origin.

Aqui, definimos SEN como sendo a solução estoque de cada nanopartícula em questão. M1 e M3 são as concentrações de mucina usadas na síntese e D a de DPPC. Ainda, nos

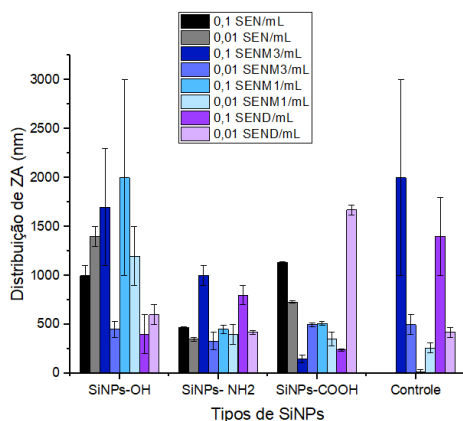
controles não há nanopartículas presentes.

Figura 2: Potencial Zeta (ZP) em pH 4.5.



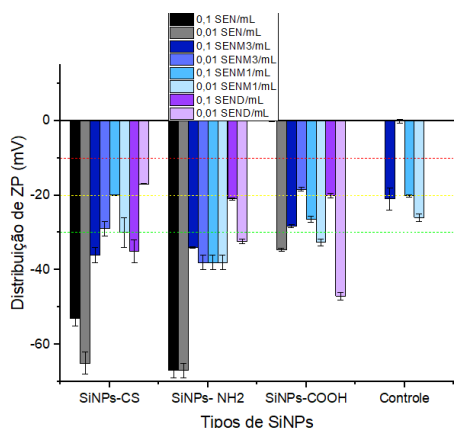
Fonte: Elaborado no software Origin.

Figura 3: Tamanho médio (ZA) em pH 7.4.



Fonte: Elaborado no software Origin.

Figura 4: Potencial Zeta (ZP) em pH 7.4.



Fonte: Elaborado no software Origin.

Conclusão

As nanopartículas sem corona apresentaram estabilidade moderada a altamente estáveis em pH ácido, enquanto as com corona de mucina, passaram à instabilidade apresentando tamanhos variados e erro

s associados relativamente altos. A corona lipídica conferiu uma estabilidade ligeiramente melhor, mas nada comparado a estabilidade inicial, ressalva à SiNPs-NH₂ a 10^{-2} e também às SiNPs-OH e SiNPs-COOH a 10^{-1} , tendo essas duas últimas ZP nulo. Quanto ao tamanho, SiNPs-OH e SiNPs-COOH sem corona tendem a agregar mais em pH 7.4 do que em pH 4.5, o oposto é observado para as SiNPs-NH₂, a corona lipídica não alterou consideravelmente as SiNPs-COOH, já as SiNPs-OH e as SiNPs-NH₂ demonstraram comportamento oposto ao original. Em pH neutro, as mesmas foram consideradas altamente estáveis, com exceção das SiNPs-COOH a 10^{-1} , tendo estas um ZP nulo. No geral todas, tanto a corona de DPPC como a de mucina, mantiveram-se nos limites de estabilidade, porém o módulo do ZP caiu pela metade. SiNPs-OH apresentam tamanhos variados, dependendo da diluição e concentração de mucina, para o DPPC, o mesmo não é observado. As SiNPs com mucina tiveram um tamanho reduzido comparadas às sem corona, o mesmo para as SiNPs com o DPPC a 10^{-1} , com a diluição, seu tamanho aumenta consideravelmente.

Referências

1. WADA, A. et al. *MCM-enzyme-supramolecular hydrogel hybrid as a fluorescence sensing material for polyanions of biological significance. Journal of the*

- American Chemical Society**, v. 131, n. 14, p. 5321–5330, 2009.
2. SHEN, S. et al. *Synthesis of carboxyl-modified rod-like SBA-15 by rapid cocondensation*. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 321, n. 2, p. 365–372, 15 maio 2008.
 3. PARIDA, K. M.; RATH, D. *Amine functionalized MCM-41: An active and reusable catalyst for Knoevenagel condensation reaction*. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 310, n. 1–2, p. 93–100, 1 set. 2009.
 4. XIAO, WEI; GAO, H. *The impact of protein corona on the behavior and targeting capability of nanoparticle-based delivery system*. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 552, p. 328–339, 2018.
 5. ZHANG, Xi et al. Quantification of lipid corona formation on colloidal nanoparticles from lipid vesicles. **Analytical chemistry**, v. 90, n. 24, p. 14387-14394, 2018.

Study of coronas formation of pulmonary surfactant and mucin in silica nanoparticles under hyperinflammation conditions.

Igor dos Santos Pedriz

Dr. Leonardo Miziara Barboza Ferreira

Prof. Dr. Valtencir Zucolotto

Colaboradora: Bianca Martins Estevão

Objective

The main objective of the study is to characterize and understand the processes that occur in the formation of biomolecular coronas of mucin protein and dipalmitoylphosphatidylcholine phospholipid (DPPC) in silica nanoparticles with different surface charges (-OH, -NH₂ and COOH) in addition to synthesizing the corona coated nanocomposites.

Methods and Procedures

Nanoparticles (MCM-41 or SiNPs-OH) were first synthesized from an adaptation of the method employed by Trens et al.^[1] From the MCM-41, two post-condensation modifications were used, one direct for SiNPs-NH₂^[2] and another indirect, which after processing with sulfuric acid, obtains SiNPs-COOH.^[3]

To confirm the functionalization, both DLS/Zeta and FTIR spectra analyzes were performed to confirm the success of the synthesis. Dilutions of 10⁻¹ and 10⁻², performed in acetate buffer (TA) pH 4.5 hyperinflammation and phosphate buffer (TF) pH 7.4 healthy, were performed.

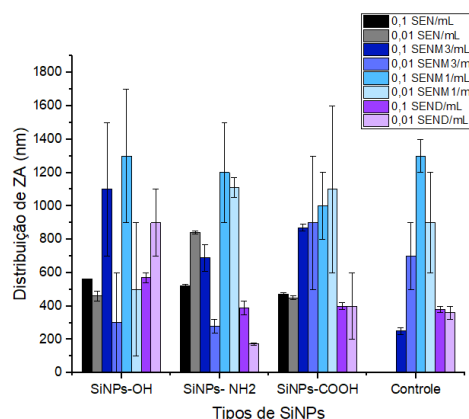
The corona nanoparticles were prepared for each grouping. For protein corona formation, two mucin concentrations (0.05mg/mL and 0.15mg/mL) were used.^[4]

Regarding the lipid corona, a concentration of 0.734mg/mL of the DPPC phospholipid was used.^[5] Control samples were prepared following the same procedures, but without the addition of nanoparticles.

Result

Figures 1 and 3 indicate the mean values for the size (ZA, from the English Z-average) of the nanoparticles, while figures 2 and 4 show the Zeta potential (ZP) values for them

Figure 1: Average size (ZA) at pH 4.5.

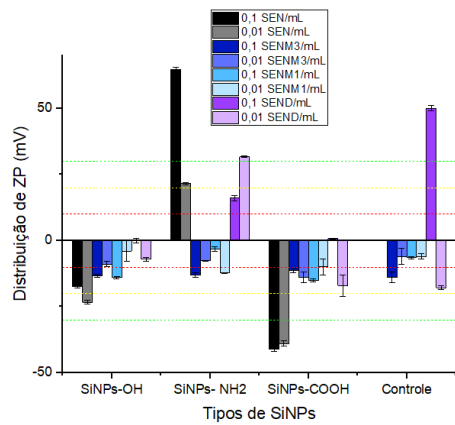


Source: Created in the Origin software.

Here, we define SEN as the stock solution of each nanoparticle in question. M1 and M3 are the mucin concentrations used in

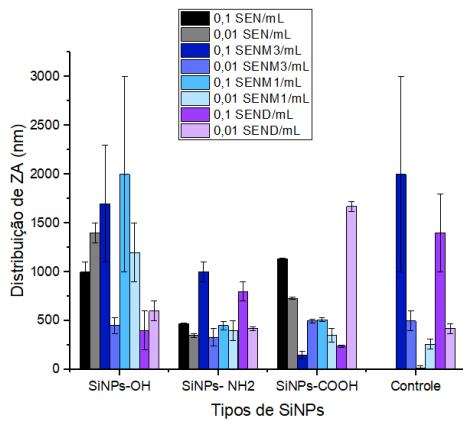
the synthesis and D is the DPPC. Also, in the controls there are no nanoparticles present.

Figure 2: Zeta Potential (ZP) at pH 4.5.



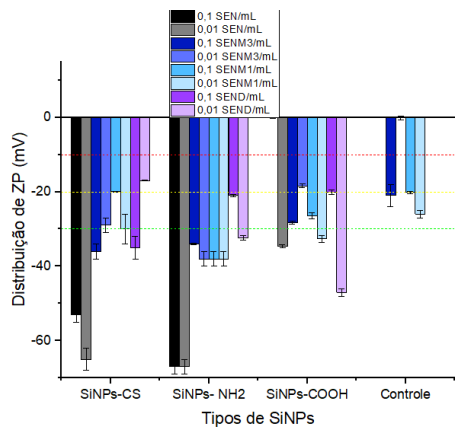
Source: Created in the Origin software.

Figure 3: Average size (ZA) at pH 7.4.



Source: Created in the Origin software.

Figure 4: Zeta Potential (ZP) at pH 7.4.



Source: Created in the Origin software.

Conclusions

The nanoparticles without corona showed moderate to highly stable stability at acid pH, while those with mucin corona, became unstable with varying sizes and error

s relatively high associates. The lipid corona provided a slightly better stability, but nothing compared to the initial stability, except for SiNPs-NH_2 at 10-2 and also for SiNPs-OH and SiNPs-COOH at 10-1, with these last two ZP null. As for size, SiNPs-OH and SiNPs-COOH without corona tend to aggregate more at pH 7.4 than at pH 4.5, the opposite is observed for SiNPs-NH2, the lipid corona did not significantly change SiNPs-COOH, whereas SiNPs -OH and SiNPs-NH2 showed opposite behavior to the original. At neutral pH, they were considered highly stable, with the exception of SiNPs-COOH at 10-1, which have zero ZP. Overall, both the DPPC and mucin coronas remained within the stability limits, but the ZP modulus dropped by half. SiNPs-OH have different sizes, depending on mucin dilution and concentration, for DPPC, the same is not observed. SiNPs with mucin had a reduced size compared to those without corona, the same for SiNPS with DPPC at 10-1, with the dilution, its size increases considerably.

References

1. WADA, A. et al. *MCM-enzyme-supramolecular hydrogel hybrid as a fluorescence sensing material for polyanions of biological significance. Journal of the American Chemical Society*, v. 131, n. 14, p. 5321–5330, 2009.

2. SHEN, S. et al. *Synthesis of carboxyl-modified rod-like SBA-15 by rapid cocondensation*. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 321, n. 2, p. 365–372, 15 maio 2008.
3. PARIDA, K. M.; RATH, D. *Amine functionalized MCM-41: An active and reusable catalyst for Knoevenagel condensation reaction*. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 310, n. 1–2, p. 93–100, 1 set. 2009.
4. XIAO, WEI; GAO, H. *The impact of protein corona on the behavior and targeting capability of nanoparticle-based delivery system*. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 552, p. 328–339, 2018.
5. ZHANG, Xi et al. *Quantification of lipid corona formation on colloidal nanoparticles from lipid vesicles*. **Analytical chemistry**, v. 90, n. 24, p. 14387-14394, 2018.