

## RADIOMARCACIÓN DE NANOPARTÍCULAS PROTEICAS MANOSILADAS PARA APLICACIÓN EN DIAGNÓSTICO

Salgueiro C<sup>1</sup>, Gonzalez M<sup>1</sup>, Bernini M<sup>1</sup>, G de Castiglia S<sup>1</sup>, Radrizzani M<sup>2</sup>, Grasselli M<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>TECNUCLEAR S.A., CABA, Argentina.

<sup>2</sup>CESYMA. UNSAM, Argentina.

<sup>3</sup>Laboratorio de Materiales Biotecnológico. UNQ, Argentina.

**Palabras clave:** Nanopartículas funcionalizadas, Radiodiagnóstico, Ganglio Centinela.

### Objetivos:

Dada sus dimensiones en el orden nanométrico, las nanopartículas (NPs) están siendo extensamente estudiadas para explorar sus ventajas en diagnóstico *in vivo*. Estas potenciales ventajas incluyen la posibilidad de transportar una carga mayor, tener mayor avidéz por el blanco y dimensiones adecuadas para la interacción con células. En el presente trabajo se presentan resultados preliminares sobre la radiomarcación de NPs de albúmina humana decoradas con grupos manosa. Estos últimos son conocidos antígenos que pueden ser reconocidos por macrófagos. Por otra parte las NPs se funcionalizaron con un quelante derivado del DTPA, el p-SCN-bencilDTPA para poder ser marcadas con radionucleídos útiles en diagnóstico (<sup>111</sup>In y <sup>99m</sup>Tc).

### Materiales y métodos:

Se prepararon NPs en base a una solución de Albúmina humana según procedimiento propio (HSA-NPs). Se purificaron con columna de exclusión molecular para eliminar Albúmina libre. Se funcionalizaron con el quelante DTPA y esterilizaron por filtración (Filtro tipo Millipore 0.22 µm bajo flujo laminar). Se prepararon también muestras de Albúmina Humana-DTPA (HSA-DTPA) y NPs-HSA sin decorar con el fin de determinar impurezas y marcación inespecífica. Se realizó un control del comportamiento electroforético y se determinó el tamaño de las partículas por *Dynamic Light Scattering*. Las muestras se marcaron con una solución de <sup>111</sup>InCl<sub>3</sub> (Nordion, Canada) agregando buffer acético/acetato para mantener el <sup>111</sup>In complejo y mezclando con una solución de NPs en el mismo buffer (1:1 v/v buffer/NPs), con un tiempo de incubación a temperatura ambiente de 20 min. La marcación con <sup>99m</sup>Tc (eluido proveniente de un generador Tecnonuclear SA) se llevó a cabo usando SnCl<sub>2</sub> como reductor (5 mg/20 mL HCl 0.1N). Para los controles de pureza radioquímica (PR) se usó ITLC en solvente citrato de sodio pH 5.5 para <sup>111</sup>In y con ITLC en solución fisiológica y Papel Whatman 3MM embebido en una solución de albúmina 5% para las marcadas con <sup>99m</sup>Tc. Esta última condición para determinar la presencia de Albumina marcada como impureza. Se realizaron distintas experiencias de marcación: a) HSA-NPs sin quelante ni manosa b) NPs-HSA con DTPA: en este caso se probaron distintas relaciones NP: <sup>111</sup>In c) HSA-DTPA y se controlaron según los sistemas descriptos.

### Resultados:

Tamaño estimado de HSA-NPs entre 150-200 nm de diámetro. Se funcionalizaron eficientemente con el p-SCN-bencilDTPA, determinado por los cambios en el espectro de absorción de luz UV-visible. La PR de las NPs marcadas con <sup>111</sup>In fue mayor del 95%, pero resultaron inestables a las 24 h. Las partículas marcadas con <sup>99m</sup>Tc dieron un PR >95% y estables a 24 h y con un 3,3 % de Albúmina libre marcada como impureza y un contenido de <sup>99m</sup>Tc libre <2%.

### Conclusiones:

Se obtuvieron NPs de albúmina manosiladas marcadas con <sup>111</sup>In y <sup>99m</sup>Tc. La pureza radioquímica de la formulación utilizando este último radionucleído es adecuada para realizar estudios *in-vivo*. Este producto abre un amplio campo de posibilidades de funcionalización de NPs proteicas con diferentes quelantes y moléculas específicas, para ser usadas en el diagnóstico y tratamiento de distintas enfermedades.