



DESENVOLVIMENTO DE UM NOVO COMPÓSITO NANOHÍBRIDO PARA A DEPLEÇÃO DE PROTEÍNAS DE ALTA ABUNDÂNCIA EM AMOSTRA DE SORO SANGUÍNEO

Gabriela S. Melo (G)¹, Julia A. M. da Costa (G)^{1*}, Marcos V. S. Pereira (PG)¹ e Jemmyson R. de Jesus (PQ)¹

julia.a.costa@ufv.br

¹ Departamento de Química, UFV

RESUMO

Este trabalho reporta a síntese e aplicação de um novo nanocompósito magnético ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MOF-Zr}$) para a depleção de proteínas de alta abundância em soro sanguíneo, visando a detecção de biomarcadores de doenças humanas. O material foi obtido pela funcionalização de nanopartículas magnéticas de ferro com um estrutura metalorgânica de MOF à base de zircônio e caracterizado usando MEV, FT-IR, BET, TGA e DLS. A otimização experimental (pH 6,2; 39 min; 49,75 mg) resultou em eficiência de extração superior a 80 %. A cinética de adsorção seguiu modelo de pseudo-segunda ordem ($R^2 = 0,921$) e a isoterma de adsorção ajustou-se ao modelo de Freundlich ($R^2 = 0,965$). O material demonstra potencial como alternativa de baixo custo para simplificação do proteoma sanguíneo, contribuindo para o enriquecimento de proteínas de baixa abundância e melhoria de diagnósticos para doenças humanas.

Palavras-chave: Redes metalorgânicas, Preparo de amostra, Proteômica, Doença humana.

Introdução

A análise proteômica do soro sanguíneo representa uma das principais estratégias para a identificação de biomarcadores de diversas doenças humanas (1,2). No entanto, a elevada concentração de proteínas de alta abundância dificulta a detecção de proteínas de baixa abundância, que podem indicar estados patológicos (3). Estratégias baseadas em materiais nanohíbridos vêm sendo desenvolvidas para remover seletivamente proteínas majoritárias (4,5). Entre esses materiais, as Redes Metalorgânicas (*Metal-Organic Frameworks*, MOFs) destacam-se por sua elevada área superficial, porosidade ajustável e facilidade de funcionalização, características que, quando combinadas a nanopartículas magnéticas, oferecem vantagens adicionais na separação e recuperação do adsorvente (6,7). Este trabalho reporta o desenvolvimento de um nanocompósito magnético baseado em nanopartículas magnética de ferro (Fe_3O_4) funcionalizadas com MOF de zircônio (MOF-Zr) para a depleção de proteínas séricas abundantes, visando a identificação de biomarcadores de doenças humanas.

Experimental

Síntese de nanopartícula magnética de ferro (Fe_3O_4)

Inicialmente, dissolveu-se 0,510 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,150 g de $\text{Na}_2\text{Cit} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e 0,900 g de $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ em 15,0 mL de etilenoglicol. A solução obtida foi transferida para um frasco de teflon e selado em um reator de aço inoxidável, posteriormente aquecida a 200°C em estufa durante 10 h. Após a reação, o produto formado foi separado por magnetização, lavado com etanol quatro vezes e então, seco em estufa a 50 °C durante 4h (6).

Síntese de MOF-Zr

O MOF-Zr foi sintetizado pelo método solvotérmico (6). Resumidamente, 0,400 g de NaOH foram adicionados a 10,0 mL de água deionizada, sob agitação e aquecimento até a temperatura de 70 °C. Em seguida, adicionou-se, lentamente, 0,585 g de 1,4-benzenodicarboxilato (BDC), sob agitação e aquecimento constante até o volume reduzir para 5,0 mL. Em seguida, foram incorporados 0,413 g do $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ à solução, mantendo a agitação por 3 min. Após a adição de 10,0 mL de, a solução foi transferida para um frasco de teflon, selada em um reator de aço inoxidável e levada à estufa a 200 °C por 24 h. Em seguida, o sólido formado foi separado por centrifugação a 4.000 rpm por 20 min e lavado com etanol. O sólido foi então seco em estufa a 50 °C durante 4 h.

Funcionalização da nanopartícula magnética de ferro com o MOF-Zr

Para a funcionalização da nanopartícula com o MOF-Zr, cerca de 0,100 g de Fe_3O_4 , 0,250 g de MOF-Zr e 0,003 g de O-(2-mercaptoetil)-O'-metilpolietilenoglicol (MEO) foram dispersos em 5,0 mL de etanol. Esta solução foi homogeneizada em vortex e submetida a agitação mecânica por 24 h a temperatura ambiente. Sequencialmente, o sólido foi separado por centrifugação a 4.000 rpm por 20 min e lavado com etanol. O sólido foi então seco em estufa a 50 °C durante 4 h.

Caracterizações

Para evidenciar o sucesso da síntese, o material produzido foi caracterizado por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV/EDS), Espectroscopia no Infravermelho (FT-IR), análise termogravimétrica (TGA), análise BET para área superficial, Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) para determinação do



tamanho de partícula e potencial zeta.

Otimização das condições de uso do material

Para se obter a melhor condição de adsorção proteica, as condições de extração foram otimizadas utilizando planejamento fatorial 2^3 com delineamento composto central, envolvendo três variáveis independentes: pH (3,0 - 10,0), tempo de incubação (1 - 60 min) e massa do adsorvente (10,0 - 67,5 mg). Em microtubos de 1,5 mL, diferentes quantidades do material foram incubadas com solução padrão de albumina bovina (BSA) ($200 \mu\text{g mL}^{-1}$) e ditioneína (DTT) em tampões com diferentes pHs, mantidos a $37,5^\circ\text{C}$. Após o tempo de incubação, as amostras foram centrifugadas (10.000 rpm, 10 min) para separação do nanomaterial, e o sobrenadante foi analisado pelo método de Bradford ($\lambda_{\text{max}} = 595 \text{ nm}$). Os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados foram processados por análise estatística multivariada para determinar as condições ótimas de operação.

Cinética e Isoterma de adsorção

O estudo cinético foi realizado incubando 10,0 mg do composto $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MOF-Zr}$ com solução padrão de BSA ($200 \mu\text{g mL}^{-1}$) e DTT (500 mmol L^{-1}) em tampão PBS pH 6,2 a $37,5^\circ\text{C}$. Amostras foram coletadas em diferentes tempos (até 6 h), centrifugadas (10.000 rpm, 10 min) e o sobrenadante analisado por método colorimétrico de Bradford ($\lambda_{\text{max}} = 595 \text{ nm}$). Os dados obtidos foram ajustados aos modelos de pseudo-primeira e pseudo-segunda ordem para determinar o mecanismo de adsorção. A isoterma foi avaliada incubando o composto $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MOF-Zr}$ sob as condições otimizadas, com soluções de BSA em diferentes concentrações ($0,75 - 9,00 \mu\text{g mL}^{-1}$). Após incubação (2 h, $37,5^\circ\text{C}$), as amostras foram centrifugadas e o sobrenadante analisado por método de Bradford ($\lambda_{\text{max}} = 595 \text{ nm}$). A capacidade de adsorção foi calculada e os dados ajustados aos modelos de Langmuir e Freundlich para avaliar a interação do material com as proteínas.

Resultados e Discussão

A morfologia das amostras MOF-Zr e $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MOF-Zr}$ foi investigada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Conforme ilustrado na **Figura 1**, o MOF-Zr apresenta uma estrutura cristalina, embora sem contornos morfológicos bem definidos. Em contraste, o material $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MOF-Zr}$ apresentou morfologia predominantemente esférica. As demais caracterizações serão apresentadas no evento.

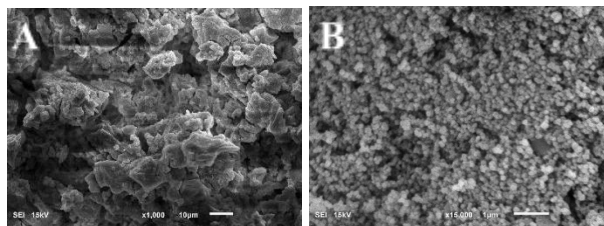


Figura 1. (A) Microscopia eletrônica de varredura para o MOF-Zr. (B) Microscopia eletrônica de varredura para o $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MOF-Zr}$.

A análise de adsorção/dessorção de N_2 para a $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MOF-Zr}$ (**Figura 2**) revelou uma isoterma do tipo IV, típica de materiais mesoporosos. O composto apresentou área superficial específica de $186,352 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ e volume de poros de $0,20028 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$, valores favoráveis para a adsorção de moléculas de maior tamanho.

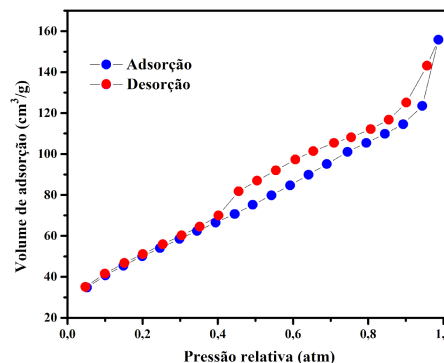


Figura 2. Isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio mostrando as características da isoterma do tipo IV.

A análise multivariada indicou que as condições ideais para identificação de proteínas de baixa abundância foram alcançadas com os parâmetros: (i) pH 6,2, (ii) tempo de incubação de 39 min e (iii) 49,75 mg de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MOF-Zr}$. No estudo cinético, verificou-se melhor ajuste para o modelo matemático de pseudo-segunda ordem ($R^2=0,921$), indicando que o processo de adsorção tem a quimissorção como a etapa determinante do mecanismo, envolvendo interações químicas fortes entre o material e o adsorvato. No estudo da isoterma de adsorção, o modelo de Freundlich forneceu o melhor ajuste para os dados experimentais ($R^2=0,965$). Estes dados indicam que o material apresenta uma superfície heterogênea, onde a adsorção não será uniforme.

Conclusões

A síntese de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MOF-Zr}$ foi realizada com sucesso. Os estudos de otimização demonstraram que, sob condições controladas (pH 6,2, 39 min, 49,75 mg), o material foi capaz de remover mais de 80% de proteínas de alta abundância do soro sanguíneo. A cinética de adsorção seguiu o modelo de pseudo-segunda ordem e a isoterma ajustou-se ao modelo de Freundlich, indicando adsorção favorável em superfície heterogênea. Esses resultados evidenciam o potencial do $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MOF-Zr}$ como adsorvente de baixo custo para simplificação do proteoma, possibilitando a busca de biomarcadores clínicos.

Agradecimentos

CNPq (405828/2022-5), CAPES, FAPEMIG (APQ-01786-22, APQ-05429-23, e RED-00144-22).

Referências

1. R.D. Smith *et al.*, Proteomics 2005, 5, 4034–4045.
2. J.R. de Jesus, Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, 2017.
3. M.D.P. Lobo, Tese de Doutorado, Universidade Federal do Ceará, 2016.
4. C.F. Silva *et al.*, Química Nova 2021, 44, 1137–1150.
5. E.M. Vieira, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, 2023.
6. J. Zheng, *et al.* Chem. B 2015, 3, 2185–2191.
7. F. Rosário *et al.*, Toxics 2022, 10, 260.