

Academia Oamenilor de Știință din România

RAPORT DE ACTIVITATE

Nr. 1

Suporturi magnetice destinate eliberării controlate

Director de Proiect:

Prof. Dr. Ing. Ecaterina ANDRONESCU

Membru Titular al AOSR

Cercetător:

As. Univ. Drd. Ing. Vladimir-Lucian ENE

Universitatea POLITEHNICA din București

Iunie 2018

Cuprins

1. PROBLEMATICA ABORDATĂ.....	2
2. METODE ACTUALE DE REZOLVARE	3
3. SUPORTURI MAGNETICE DESTINATE ELIBERĂRII CONTROLATE	4
3.1 NANOPARTICULE DE MAGNETITĂ - GENERALITĂȚI.....	4
3.2 STABILIZAREA PARTICULELOR MAGNETICE.....	6
3.3 APLICAȚII ALE NANOPARTICULELOR MAGNETICE.....	8
4. COMPUȘI ANTITUMORALI NATURALI CU CARACTER HIDROFIL	10
5. CONCLUZII - OBIECTIVE SPECIFICE ALE PROIECTULUI	12
6. REFERINȚE BIBLIOGRAFICE	14

1. Problematika abordată

Cancerul este unul din cele mai răspândite grupuri de boli, cauzând aproximativ 14.6% din totalitatea deceselor, reprezentând o problemă majoră de sănătate la nivel global, potrivit Societății Americane a Cancerului. Accelerarea progresului împotriva cancerului necesită atât investiții globale crescute în cercetarea cancerului, cât și aplicarea cunoștințelor existente de control al cancerului în toate segmentele populației [1]. Agenția Internațională pentru Cercetare a Cancerului (IARC) a estimat că, în absența unor eforturi semnificative pentru îmbunătățirea controlului global al cancerului, mortalitatea produsă de cancer ar putea crește la 12.9 milioane și incidența cancerului la 20 milioane până în anul 2030 [2]. La o analiză mai atentă a datelor, devine clar că stigmatul legat de cancer este o problemă importantă care trebuie abordată din cauza devastării sociale, emoționale și financiare care adesea însoțesc diagnosticul de cancer. Convingerile culturale privind cancerul devin din ce în ce mai recunoscute ca factori determinanți, nu numai pentru prevenirea cancerului și măsuri de control, ci și pentru implicațiile psihologice și comportamentale de după diagnosticarea și tratamentul cancerului.

Tratamentele pentru cancer includ intervenții chirurgicale, radioterapie, imunoterapie și chimioterapie, ultima fiind utilizată în aproape 50% din cazurile de cancer, ca tratament standard pentru multe, dacă nu toate, cancerele metastazice [3]. Un dezavantaj general al chimioterapiei este eficacitatea redusă a livrării de medicamente către celulele tumorale, cauzând pătrunderea neintenționată a medicamentelor la celulele și țesuturile nețintite, ceea ce conduce la multiple efecte secundare, incluzând căderea părului, grețuri și vărsături, risc crescut la infecții, oboseală, datorită numărului scăzut de celule sanguine (prin afectarea celulelor măduvei osoase care formează sângele). Pentru a se realiza concentrația dorită a medicamentului în celulele tumorale, se utilizează doze mai mari de medicamente anticanceroase, provocând chiar și mai multe efecte secundare datorate toxicității off-target a agenților chimioterapeutici [4]. Un alt dezavantaj major al chimioterapiei este rezistența intrinsecă sau dobândită a unei tumori la medicament, care adesea conduce la reparația bolii și reduce rezultatele terapeutice. În ultimul deceniu, rezistența la tratament a atras o mare atenție urmată de unele descoperiri seminale, incluzând mutații secvențiale, celule stem canceroase și interconversie bidirecțională a populațiilor de celule canceroase din tulpinile stem și non-stem. [5].

Cu toate acestea, tratamentul cu succes al cancerului va necesita depășirea acestor elemente de dificultate printr-o rafinare considerabilă a cunoștințelor privind tratamentul și, prin urmare, îmbunătățirea prognosticului pacienților cu cancer.

2. Metode actuale de rezolvare

În încercarea de a substitui tratamentele actuale de cancer, diferite nanobiomateriale, cum ar fi lipozomi și imunolipozomi [6], nanoparticule magnetice (MNPs) [7-9], polimeri [10], nanogeluri etc. sunt folosite ca nanotransportori pentru agenții chimioterapeutici. Astfel de nanotransportori sporesc timpul de circulație al agenților chimioterapeutici în fluxul sanguin, îmbunătățesc acumularea și reținerea agenților în tumoare și, în unele cazuri, sporesc eliberarea de agenți chimioterapeutici peste barierele fiziologice la locul bolii. Datorită dimensiunilor nanometrice (10 până la 100 nm) și permeabilității și retenției îmbunătățite (EPR), nanotransportorii tind să se acumuleze în țesutul tumoral mai mult decât în țesuturile normale. Explicația acestui fenomen rezidă în faptul că celulele tumorale trebuie să stimuleze producția de vase de sânge pentru a crește rapid. Per ansamblu, acest fapt duce la creșterea eficacității terapiei și la reducerea efectelor secundare [11].

Printre numeroasele nanoparticule magnetice (MNPs) utilizate ca nanotransportori pentru eliberarea agenților chimioterapeutici, nanoparticulele de Fe_3O_4 au atras o atenție specială deoarece oferă oportunități pentru aplicații biologice datorate superparamagnetismului lor [12]. Cu toate acestea, există unele dezavantaje majore care limitează aplicațiile lor practice: (i) nanoparticulele simple de Fe_3O_4 sunt sensibile la condițiile acide și oxidative și (ii) existența unor forțe van der Waals și a atracțiilor magnetice dintre particule determină ca dispersia MNP să fie foarte instabilă, particulele fiind predispuse la aglomerare. Prin urmare, acoperirea unui strat exterior de protecție este foarte importantă pentru a menține stabilitatea componentei magnetice [13]. O strategie eficientă pentru a realiza acest lucru o reprezintă încapsularea nanoparticulelor de Fe_3O_4 într-un înveliș anorganic (C, SiO_2 , ZnO etc.) pentru a forma nanocompozite magnetice, care pot extinde aplicarea lor tehnică ca rezultat al caracteristicilor unice ale cochiliei (stabilitate înaltă în condiții extreme și structură poroasă naturală) și abilității acesteia de a oferi o platformă pentru legarea de grupări funcționale. Cu toate acestea, utilizarea acestor sisteme pentru tratamentul cancerului este limitată datorită faptului că majoritatea nanostructurilor anorganice de magnetită acoperită este hidrofobă și inertă chimic, ceea ce în mod evident este dezavantajos față de bioaplicațiile lor în mediul apos.

Un material sintetic promițător raportat în literatura de specialitate pentru modificări de suprafață ale MNP-urilor este polietilenglicolul (PEG), un polimer hidrofil, solubil în apă, biocompatibil, non-antigenic și proteic [14]. Potrivit studiilor, MNP acoperite cu PEG au prezentat o stabilitate coloidală ridicată de până la 21 de zile în comparație cu MNP nemodificate [15]. În funcție de aplicație, această stabilitate pe termen lung nu este neapărat necesară, eliberarea citostaticelor decurgând în doar câteva zile. Ca atare, găsirea unor astfel de agenți de acoperire adecvați este încă o provocare a abordărilor curente.

3. Suporturi magnetice destinate eliberării controlate

Nanoparticulele anorganice utilizate ca nanotransportori pentru sistemele cu eliberare controlată pot fi definite ca particule de oxizi metalici sau cu compoziție metalică, cu un efect citotoxic redus. În cadrul acestei aplicații, nanoparticulele anorganice prezintă o serie de avantaje: posibilitatea modificării moleculelor de țintire sau a medicamentelor atașate la nivelul acestora, livrarea eficientă a compușilor terapeutici la situsurile țintă, conducând astfel la o terapie mult mai eficientă și un control mult mai bun al eliberării substanțelor active. Nanoparticulele anorganice prezintă proprietăți chimice, fizice și biologice net superioare, și totodată performanțe semnificative, ca urmare a dimensiunilor nanometrice ale acestora. În plus, suprafața specifică mare, și implicit reactivitatea mărită a acestora, oferă posibilitatea atașării unui număr mare de liganzi care să le îmbunătățească afinitatea față de celulele și țesuturile țintă, reducând efectele adverse și asigurând astfel o creștere semnificativă a eficienței terapeutice [16]. În cadrul acestei clase de nanotransportori pot fi încadrate următoarele tipuri de nanoparticule: nanoparticule metalice (ex.: nanoparticule de aur), nanoparticule magnetice (magnetita), punctele cuantice (Quantum Dots), nanoparticule nemetalice (nanoparticule de hidroxiapatită, silice mezoporoasă, nanoparticule de alumina) și nanoparticule pe bază de carbon (fulerene și nanotuburi de carbon).

3.1 Nanoparticule de magnetită - generalități

Nanoparticulele magnetice prezintă o gamă variată de caracteristici ce le recomandă drept candidați promițători pentru sistemele cu eliberare controlată. Unele dintre aceste caracteristici sunt: manipularea ușoară a nanoparticulelor prin aplicarea unui câmp magnetic extern, posibilitatea utilizării unor strategii pasive și active de eliberare a substanței active, abilitatea de a fi vizualizate prin intermediul tehnicilor de imagistică precum rezonanța magnetică nucleară, și internalizarea eficientă de către țesuturile țintă, asigurând eficiența tratamentului pentru doze terapeutice optime [17].

Magnetita (Fe_3O_4) este un mineral din grupa oxizilor de fier ce cristalizează în sistemul cubic cu fețe centrate, pe baza a 32 ioni de oxigen (O^{2-}) strâns ordonați de-a lungul direcției $[1\ 1\ 1]$. Magnetita diferă față de majoritatea oxizilor de fier prin faptul că deține în structură atât ioni de fier bivalenți (Fe^{2+}), cât și trivalenți (Fe^{3+}) [18].

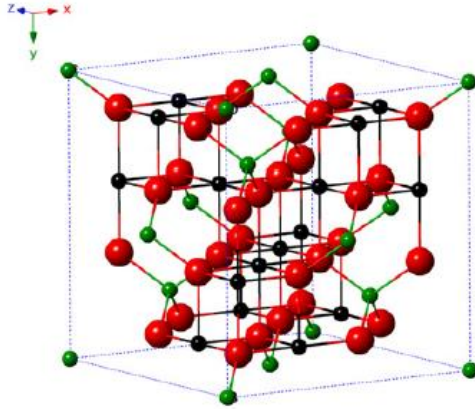


Figura 1. Structura cristalină a magnetitei (Fe_3O_4) [18].

După cum se poate observa în *Figura 1*, magnetita prezintă o structură spinelică inversă, ce constă într-o rețea cubică de ioni oxidici, în care toți ioni de Fe^{2+} ocupă jumătate din spațiile octaedrice, iar ioni de Fe^{3+} sunt uniform distribuiți la nivelul situsurilor octaedrale remanente și a celor tetraedrale.

În magnetita stoechiometrică raportul ionilor de fier $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ este $\frac{1}{2}$, iar ioni bivalenți de fier pot fi parțial sau total înlocuiți de alți ioni bivalenți (cobalt, mangan, zinc, etc). Astfel, magnetita poate fi un semiconductor atât de tip n , cât și de tip p . Cu toate acestea, magnetita este oxidul de fier cu cea mai scăzută rezistivitate, ca urmare a benzii interzise foarte înguste (0,1 eV) [18-20].

La temperatura camerei, magnetita are un comportament ferimagnetic: sub temperatura Curie (în cazul magnetitei, 850K), momentele magnetice ale situsurilor tetraedrice, ocupate de speciile ferice (Fe^{3+}), sunt aliniată feromagnetic, în timp ce momentele magnetice pe situsurile octaedrice, ocupate de speciile ferice și feroase (Fe^{2+}), sunt antiferomagnetice, anulându-se reciproc. Odată cu creșterea temperaturii, fluctuațiile termice distrug aliniamentul feromagnetic al momentelor magnetice la nivelul situsurilor tetraedrice; prin urmare, puterea ferimagnetică este diminuată. Când este atinsă temperatura Curie, magnetizarea netă devine zero, și se observă un comportament superparamagnetic al particulelor feromagnetice [21].

3.2 Stabilizarea particulelor magnetice

În cadrul obținerii și stocării nanoparticulelor în formă coloidală, stabilitatea coloidului este foarte importantă. Ca urmare a compoziției lor, fluidele magnetice dețin capacitatea de a interacționa cu câmpurile magnetice. În absența unui strat de acoperire, particulele magnetice de oxid de fier au suprafețe hidrofobe, cu o valoare mare a raportului suprafață/volum. Datorită interacțiilor hidrofobe dintre particule, acestea din urmă se aglomerează, formând clustere (agregate), conducând la creșterea dimensiunii particulelor. Aceste aglomerate de particule manifestă atracții magnetice foarte puternice de tip dipol-dipol și prezintă un comportament feromagnetic. Când două aglomerate de nanoparticule, de dimensiuni mari, se apropie unul de altul, fiecare dintre acestea pătrunde în câmpul magnetic al celuilalt aglomerat. Pe lângă exercitarea forțelor de atracție dintre particule, fiecare particulă se află în câmpul magnetic al particulelor vecine, devenind mult mai magnetizată. Aderarea particulelor magnetice remanente determină o magnetizare mutuală, ceea ce conduce la creșterea proprietăților de agregare [19].

După cum a fost menționat și anterior, nanoparticulele de magnetită sunt susceptibile la oxidare, iar prin acoperirea cu diverse materiale, rezistența acestora în medii oxidative (aer sau fluide biologice) este mult îmbunătățită.

De vreme ce particulele sunt atrase magnetic, pe lângă aglomerarea datorată forțelor Van de Waals, modificarea suprafeței este adesea indispensabilă. Pentru stabilizarea eficientă a nanoparticulelor de oxid de fier se recomandă acoperirea acestora cu stabilizatori precum surfactanți sau macromolecule (polimeri), care, în cele din urmă, vor împiedica agregarea nanoparticulelor magnetice. Majoritatea acestor polimeri aderă la suprafața particulelor într-o manieră specifică substratului.

Materialul de acoperire trebuie ales cu o foarte mare atenție, în funcție de aplicația vizată. Materialele polimerice de acoperire pot fi clasificate în sintetice și naturale. Polimerii de bază de poli(etilen-co-vinil acetat), poli(vinilpirolidona) (PVP), acid poli(lactic-co-glicolic) (PLGA), poli(etilenglicol) (PEG), alcool polivinilic (PVA), dendrimerii (poliamidoamine – PAMAM) etc. sunt exemple tipice de sisteme polimerice sintetice.

Sistemele polimerice naturale includ utilizarea gelatinei, dextranului, chitosanului etc. Diversi surfactanți, precum oleatul de sodiu, dodecilamina, carboximetilceluloza de sodiu, sunt, de asemenea, frecvent utilizate pentru a îmbunătăți capacitatea de dispersie a nanoparticulelor în medii apoase. Pe lângă compușii organici, pentru acoperirea nanoparticulelor magnetice în scopul stabilizării și al îmbunătățiri proprietăților magnetice, se

pot utiliza și alte tipuri de materiale precum metalele (aur) și compuși din clasa silicaților sau silanilor (Figura 2) [19][22].

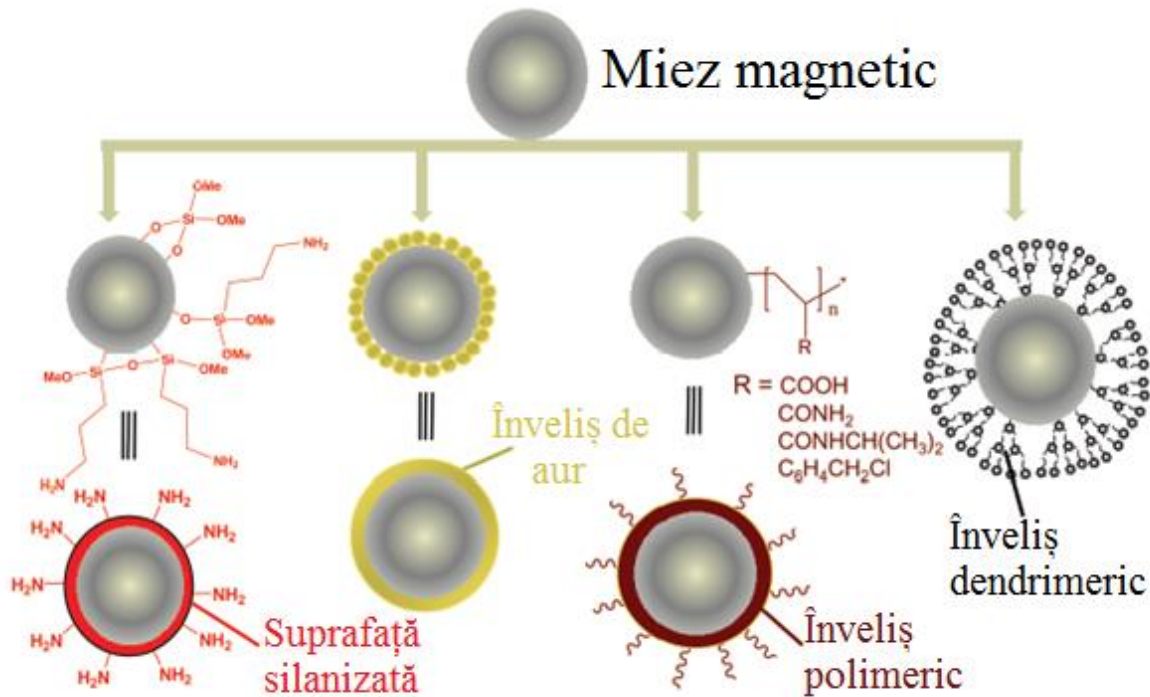


Figura 2. Nanoparticule magnetice cu tipuri variate de acoperiri [22].

Au fost dezvoltate mai multe abordări de funcționalizare a nanoparticulelor de oxid de fier cu polimeri, dintre care cele mai comune fiind acoperirea *in situ* și *post-sinteză*.

În cadrul funcționalizării *in situ*, rutele convenționale sunt polimerizarea în micro-emulsie și procesul sol-gel de funcționalizare a nanoparticulelor magnetice cu polimeri în timpul procesului de sinteză. Macromoleculele organice acoperă nanoparticulele de magnetită și formează un strat de acoperire în timpul procesului de polimerizare în emulsie; structura convențională este una de tip core-shell (miez-înveliș) sau o structură de tip dispersie în matrice. Din păcate, aceste strategii de modificare directă a suprafeței nu prezintă un real succes în ceea ce privește menținerea stabilității coloidale, iar grosimea stratului de acoperire este dificil de controlat.

În consecință, ruta cel mai frecvent abordată pentru modificarea nanoparticulelor magnetice cu polimeri este funcționalizarea *post-sinteză*. Mecanismele comune implicate în modificarea particulelor prin această strategie sunt adsorbția fizică și grupările funcționale ancorate pe suprafața nanoparticulelor de oxid de fier, determinând formarea unor particule cu o structură de tip core-shell [18].

3.3 Aplicații ale nanoparticulelor magnetice

Magnetita poate fi utilizată cu succes și în cadrul ingineriei tisulare, în special datorită susceptibilității acestui material de a fi ghidat magnetic în zona de interes, dar și datorită influenței pozitive asupra anumitor tipuri de celule, în special asupra osteoblastelor. Testele *in vitro* și *in vivo* au demonstrat că prezența magnetitei în materialele compozite utilizate în ingineria tisulară a determinat o creștere semnificativă a viabilității și a proliferării celulelor osteoblaste [23].

În cadrul administrării convenționale de medicamente, precum ingestia orală sau injectarea intravasculară, substanța activă este distribuită în întreg organismul prin intermediul circulației sistemice. Pentru majoritatea agenților terapeutici, doar o anumită cantitate a acestora ajunge la nivelul organului/țesutului afectat, iar difuzia medicamentului prin barierele biologice este relativ redusă, cauzând o creștere a incidenței efectelor adverse. Eliberarea țintită a substanțelor active tinde să concentreze medicamentul în țesutul de interes. Simultan, această tehnică determină o reducere a concentrației relative a medicamentului în țesuturile remanente și permite depășirea barierelor biologice prin acumulare activă sau printr-o strategie activă de țintire [24]. În acest sens, nanoparticulele magnetice s-au dovedit a fi candidați promițători în terapia cancerului și a poliartritei reumatoride [25], asigurând diminuarea, sau chiar anularea efectelor adverse datorate terapiei convenționale, prin reducerea distribuției sistemice a medicamentelor și scăderea dozelor compușilor citotoxici [26].

Nanoparticulele de magnetită utilizate ca transportori ai substanțelor active pot livra o gamă variată de medicamente în toate regiunile anatomice ale organismului. Prin urmare, o eliberare intracelulară eficientă a nanoparticulelor, reprezintă principalul factor în eficientizarea încapsulării agentului terapeutic. În general, nanoparticulele magnetice sunt utilizate ca miez (core), iar componentele biocompatibile joacă rolul unui înveliș, determinând obținerea unor structuri de tip core-shell (miez-înveliș) ce pot fi utilizate ca transportori ai substanțelor bioactive. Medicamentele se pot fie lega sau încapsula în matricea polimerică, fie atașa de suprafața nanoparticulelor magnetice, fiind ulterior acoperite de învelișul biocompatibil [27].

În cadrul unui sistem transportor de medicamente, dimensiunea, proprietățile de suprafață și stabilitatea reprezintă caracteristici cruciale. Nanoparticulele magnetice trebuie să fie suficient de mici pentru a penetra prin patul capilar. Cu toate acestea, dacă diametrul nanoparticulelor este mai mic de 10 nm, acestea vor fi îndepărtate rapid prin extravazări și clearance renal (eliminarea/excreția medicamentului din sistemul biologic). Prin urmare,

nanoparticulele cu diametre cuprinse între 10 și 100 nm sunt optime pentru injecția intravenoasă și prezintă cea mai îndelungată perioadă de retenție în sistemul circulator [27].

Livrarea țintită de substanțe active mediată de nanostructuri, o tehnologie cheie în dezvoltarea nanotransporturilor, are potențialul de a spori biodisponibilitatea medicamentului, de a îmbunătăți perioada de eliberare a substanței active, interacționând cu ușurință cu liganzii vizați și permițând eliberarea țintită a medicamentului (sensibilitate în prezența unui câmp magnetic extern). În particular, compozitele pe bază de nanoparticule magnetice și compuși biocompatibili (înveliș polimeric) sunt recunoscute, în prezent, drept cele mai promițătoare sisteme de eliberare controlată a agenților terapeutici [28-29]. Mai mult decât atât, particulele magnetice nanostructurate pot servi nu doar ca vehicule pentru transportul medicamentelor, ci și pentru transportul genelor în terapia genică (gene delivery) [30].

În cadrul acestei aplicații, nanotransportorii magnetici încărcăți cu molecule bioactive sunt injectați în organismul pacientului prin intermediul sistemului circulator. Un câmp magnetic extern este utilizat pentru a localiza nanosistemele la nivelul organului/țesutului țintă. Odată cu localizare sistemului în zona vizată, medicamentul este eliberat fie prin activitate enzimatică, fie prin modificarea condițiilor fiziologice (precum pH-ul, osmolalitatea sau temperatura) și poate fi astfel preluat de către celulele țintă [31-32].

În ciuda tuturor avantajelor, utilizarea nanoparticulelor magnetice ca sisteme de eliberare controlată prezintă și unele limitări. De vreme ce gradientul magnetic scade o dată cu distanța dintre câmpul magnetic și țintă, principala limitare a nanotransporturilor magnetice este asociată tăriei câmpului magnetic extern care poate fi aplicat pentru a obține gradientul magnetic necesar retenției nanoparticulelor în zona vizată, pentru o anumită perioadă de timp [33]. O altă limitare este asociată dimensiunilor mici a nanoparticulelor, o cerință esențială pentru asigurarea superparamagnetismului, care la rândul său este crucial în împiedicarea aglomerării nanoparticulelor după îndepărtarea câmpului magnetic extern. O dimensiune mică a particulelor implică un răspuns magnetic de putere redusă, fapt ce face dificilă direcționarea particulelor și păstrarea acestora în proximitatea țintei. Direcționarea s-a dovedit a fi mult mai eficientă în regiunile în care viteza de curgere a sângelui este mult mai scăzută, și cu atât mai mult, când sursa generatoare de câmp magnetic se află mai aproape de organul/țesutul țintă [34].

Deși au fost raportate numeroase beneficii ale utilizării nanoparticulelor magnetice ca sisteme de eliberare controlată și țintită a substanțelor bioactive, până în prezent, studiile clinice actuale pun încă o serie de probleme. Chiar dacă nanoparticulele magnetice pot fi considerate biocompatibile, răspunsul imun pe parcursul perioadei de retenție a sistemului,

toxicitatea nanoparticulelor magnetice și a posibililor compuși de descompunere ai acestora, sunt o serie de parametri care trebuie încă studiați pentru a determina siguranța utilizării acestor sisteme în eliberarea controlată și țintită a substanțelor active [35].

4. Compuși antitumorali naturali cu caracter hidrofil

Sistemele coloidale, cum ar fi lipozomii, nanoparticulele și microemulsiile au fost în general raportate în literatură ca purtători ai medicamentelor hidrofobe. Cu toate acestea, furnizarea de molecule hidrofille este, de asemenea, un obiectiv provocator și care necesită o abordare multidisciplinară.

Multe medicamente sunt hidrofille, iar dintre acestea multe sunt molecule cu greutate moleculară mică (mai puțin de 500 Da). Farmacopeea Statelor Unite (USP) clasifică medicamentele hidrofille, în intervalul de la foarte solubil la solubil într-un mediu apos, dacă solubilitatea lor este mai mare de 33 mg / mL. Medicamentele hidrofille sunt adesea supuse absorbției intracelulare scăzute, degradării enzimatică, eliberării rapide, distribuției suboptimale, dezvoltării rezistenței, farmacocineticii slabe, indice terapeutic scăzut și, în cazul medicamentelor antitumorale, incapacitatea de a se acumula și a fi reținută în interiorul tumorii. Încărcarea medicamentelor în sistemele de administrare coloidală poate, în multe cazuri, să depășească aceste dificultăți, deoarece poate îmbunătăți farmacocinetica, poate proteja medicamentul împotriva degradării in vivo, susține eliberarea medicamentului, crește confortul pacientului prin evitarea injecțiilor repetate și reducerea efectelor secundare. În cazul medicamentelor antitumorale, sistemele de nanoparticule posedă de asemenea avantajul de a spori permeabilitatea și retenția (efectul EPR), rezultând acumularea lor mai mare în tumori. Posibilitatea modificării suprafeței sistemelor cu nanoparticule, de exemplu prin PEGilare, conduce la sisteme coloidale discrete prin care se poate evita absorbția rapidă de către sistemul fagocitar mononuclear; adăugarea de liganzi specifici pe suprafața lor poate, de asemenea, să ofere o eliberare mai eficientă la locul țintă [36].

Produsele vegetale naturale au reprezentat fundația numeroaselor tratamente medicale. Deși aspectele moderne ale medicinei occidentale au devenit astăzi prima linie a practicii clinice, produsele vegetale naturale continuă să fie utilizate ca remedii în medicina alternativă în întreaga lume. Se estimează că 80% dintre persoanele din țările în curs de dezvoltare depind în principal de produse naturale pentru a-și satisface nevoile de asistență medicală. În Statele Unite ale Americii s-a constatat că aproximativ unul din trei americani utilizează medicamente naturale în decursul unei zile. Se estimează că din cele 877 medicamente cu moleculă mică introduse în întreaga lume în perioada 1981-2002, aproximativ 61% pot fi identificate înapoi

la origine în produse naturale. Acestea sunt nu numai eficiente, dar prezintă și o toxicitate scăzută și au doze terapeutice mult sub nivelul lor toxic [37].

Din categoria compușilor antitumorali naturali, studiul de față se va canaliza pe obținerea unor sisteme complexe magnetice pentru eliberarea irinotecanului și doxorubicinei.

Irinotecanul (figura 3) este un analog al camptotecinei, un extract din arborele chinezesc *Camptotheca Acuminata*, cu o solubilitate apoasă mai mare decât camptotecina. Irinotecanul a fost un pro-medicament activat metabolic în organism la 7-etil-10-hidroxicamptotecină (SN-38).

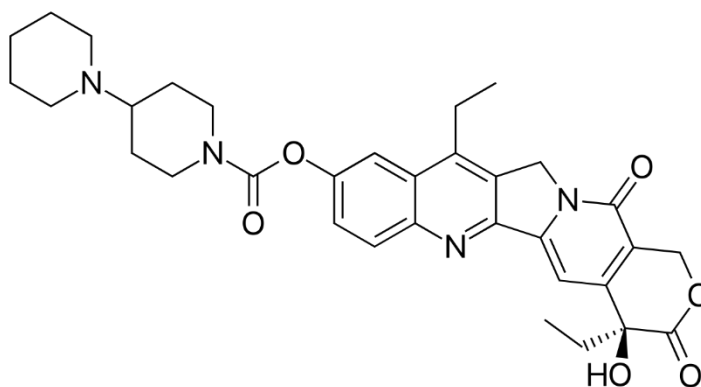


Figura 3. Formula chimică a Irinotecanului [38]

Irinotecanul are un spectru larg de activitate antitumorală atât in vitro, cât și in vivo și este asociat cu o toxicitate mai previzibilă și mai ușor de gestionat decât cea a compusului inițial izolat. După studiile clinice, irinotecanul a devenit disponibil în comerț în Japonia pentru tratamentul cancerelor pulmonare, cervicale și ovariene în 1994. Irinotecanul a fost aprobat pentru tratamentul cancerului colorectal metastatic (CRC), în asociere cu 5-fluorouracilul (5-FU) în Statele Unite în 1996, urmată de aprobarea în asociere cu 5-FU și leucovorin (LV) pentru tratamentul de primă linie a CRC metastazat [39][40].

Doxorubicina clorhidrat este sarea clorhidrică a doxorubicinei, un antibiotic antraciclinic cu activitate antineoplazică (figura 4). Doxorubicina, izolată din bacteria *Streptomyces Peucetius* var. *Caesius*, este congenerul hidroxilat al daunorubicinei. Doxorubicina se intercalează între perechile de bază din helixul ADN, împiedicând astfel replicarea ADN-ului și, în cele din urmă, inhibând sinteza proteinelor. În plus, doxorubicina inhibă topoizomeraza II care are ca rezultat un complex legat de enzimă-ADN scindabilă și stabilizată în timpul replicării ADN și, ulterior, previne legarea lanțului nucleotid după dubla ruptură. Doxorubicina forează de asemenea radicali liberi de oxigen care duc la citotoxicitate secundară peroxidării lipidelor membranei celulare. Formarea radicalilor liberi de oxigen

contribuie, de asemenea, la toxicitatea antibioticelor antraciclinei și anume efectele vasculare cardiace și cutanate [41].

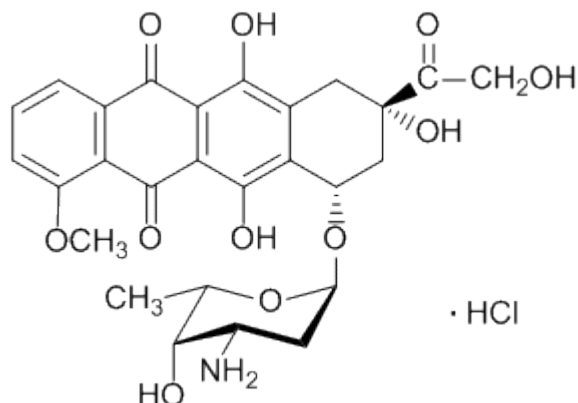


Figura 4. Formula chimică a Doxorubicinei [41]

5. Concluzii - obiective specifice ale proiectului

Proiectul propus urmărește **îmbunătățirea strategiilor medicale care vizează terapia cancerului, prin internalizarea celulară indusă a unui nou sistem nanostructurat de eliberare țintită cu produși de cataboliză ca agenți de acoperire și compuși antitumorali**. În vederea realizării acestui țel și a minimizării efectelor adverse negative ale tratamentelor actuale, se urmărește atingerea a 6 obiective specifice (OS), după cum urmează:

OS1 – Obținerea de Fe_3O_4 acoperită cu nanostructuri multifuncționale ($\text{Fe}_3\text{O}_4@NM$), utilizând 2 clase de produși naturali de cataboliză - care, după cunoștințele noastre, nu au fost raportate drept agenți de acoperire, reprezentând astfel o premieră în domeniu – hidroxiacizi (ex. acid tartaric) și cetoacizi (ex. acid cetoglutamic).

OS2 – Sinteza de $\text{Fe}_3\text{O}_4@NM$ – Citostatic hidrofil, utilizat ca sistem de eliberare în terapia cancerului. În vederea obținerii unor sisteme eficiente pentru terapia cancerului, este necesară o acoperire suplimentară a structurilor miez-înveliș cu un citostatic. Există numeroși agenți antitumorali hidrofilii care se pot utiliza în tratamentul cancerului. Eliberarea lor dintr-un sistem cu miez magnetic poate fi activată cu ușurință în prezența unui câmp electromagnetic ce funcționează în domeniul 100-300kHz. Selecția citostaticului hidrofil va fi corelată cu natura învelișului organic și cu specificitățile structurale ale nanostructurii multifuncționale astfel încât să fie asigurată o eliberare controlată optima a citostaticului la locul tumorii. Sinteza va utiliza metoda coprecipitării. Astfel, câteva sinteze vor fi realizate plecând de la precursori anorganici de Fe^{3+} și Fe^{2+} , cu alegerea nanostructurii multifuncționale drept agent de acoperire și diferiți citostatici hidrofilii (ex. curcumină, irinotecan etc.). Pentru un control îmbunătățit al stabilității și penetrabilității membranare ale acestor nanostructuri,

polietilenglicol (PEG) cu diferite grade de policondensare va fi folosit alături de citostaticele alese pentru adsorbția pe structura magnetică. Datorită binecunoscutei stabilizări pe termen lung a magnetitei prin PEG-ilare, este posibil un tratament în două faze constând în: (i) eliberarea citostaticului hidrofil și, după epuizarea acestuia, (ii) utilizarea pe termen lung a hipertermiei.

OS3 – Caracterizarea morfologică și structurală a $\text{Fe}_3\text{O}_4@NM$ - Citostatic Hidrofil, evaluarea proprietăților magnetice. Încărcarea cu citostatic hidrofil a nanostructurilor magnetice va fi evaluată prin spectroscopie FTIR și microscopie electronică prin transmisie, iar difracția de raze X împreună cu microscopia electronica prin transmisie vor fi utilizate pentru caracterizarea cristalinității, dimensiunilor și distribuției particulelor. Proprietățile magnetice vor fi evaluate utilizând VSM la temperatură controlată.

OS4 – Evaluarea eliberării citostaticului hidrofil. Eliberarea citostaticului hidrofil joacă un rol esențial în terapia cu sisteme tip $\text{Fe}_3\text{O}_4@NM$ și determină, alături de internalizare, performanțele biomedicale ale sistemului. Eliberarea va fi evaluată prin cuantificare prin ICPMS (pentru citostaticele care conțin Pt) sau cromatografie de lichide (pentru orice citostatic).

OS5 – Evaluarea biologică a sistemelor $\text{Fe}_3\text{O}_4@NM$ – Citostatic Hidrofil. Luând în considerare studiile preliminare de biocompatibilitate, în această etapă se vor studia internalizarea celulară și activitatea antitumorală.

6. Referințe bibliografice

- [1] R. L. Siegel, K. D. Miller, and A. Jemal, “Cancer statistics, 2016,” *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 66, no. 1, pp. 7–30, Jan. 2016.
- [2] M. Daher, “Cultural beliefs and values in cancer patients.,” *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.*, vol. 23 Suppl 3, no. suppl 3, pp. 66–9, Apr. 2012.
- [3] G. Wu, G. Wilson, J. George, C. Liddle, and L. Hebbard, “Overcoming treatment resistance in cancer: Current understanding and tactics,” *Cancer Lett.*, vol. 387, pp. 69–76, 2017.
- [4] K. Cheung-Ong, G. Giaever, and C. Nislow, “DNA-Damaging Agents in Cancer Chemotherapy: Serendipity and Chemical Biology,” *Chem. Biol.*, vol. 20, no. 5, pp. 648–659, 2013.
- [5] C. Carrère, “Optimization of an in vitro chemotherapy to avoid resistant tumours,” *J. Theor. Biol.*, vol. 413, pp. 24–33, 2017.
- [6] R. A. Schwendener, W. Fuchs, and G. von, “Liposomes and Immuno- liposomes as Carriers for Cytostatic Drugs, Magnetic Resonance Contrast Agents, and Fluorescent Chelates,” *Chimia (Aarau).*, vol. 46, no. 46, 1992.
- [7] D. Ficai, A. Ficai, E. Dinu, O. Oprea, M. Sonmez, M. K. Keler, Y. M. Sahin, N. Ekren, A. T. Inan, S. Daglilar, and O. Gunduz, “Magnetic core shell structures: From 0D to 1D assembling,” *Curr. Pharm. Des.*, vol. 21, no. 37, 2015.
- [8] D. Ficai, O. Oprea, A. Ficai, and A. M. Holban, “Metal oxide nanoparticles: Potential uses in biomedical applications,” *Curr. Proteomics*, vol. 11, no. 2, 2014.
- [9] D. Ficai, A. Ficai, B. S. Vasile, M. Ficai, O. Oprea, C. Guran, and E. Andronescu, “Synthesis of rod-like magnetite by using low magnetic field,” *Dig. J. Nanomater. Biostructures*, vol. 6, no. 3, 2011.
- [10] G. Dan Mogoșanu, A. Mihai Grumezescu, L. Everard Bejenaru, and C. Bejenaru, “Chapter 8 – Natural and synthetic polymers for drug delivery and targeting,” in *Nanobiomaterials in Drug Delivery*, 2016, pp. 229–284.
- [11] T. Tanaka, S. Shiramoto, M. Miyashita, Y. Fujishima, and Y. Kaneo, “Tumor targeting based on the effect of enhanced permeability and retention (EPR) and the mechanism of receptor-mediated endocytosis (RME),” *Int. J. Pharm.*, vol. 277, no. 1, pp. 39–61, 2004.
- [12] G. Unsoy, U. Gunduz, O. Oprea, D. Ficai, M. Sonmez, M. Radulescu, M. Alexie, and A. Ficai, “Magnetite: From synthesis to applications,” *Curr. Top. Med. Chem.*, vol. 15,

- no. 16, pp. 1622–1640, 2015.
- [13] M. Sonmez, M. Georgescu, L. Alexandrescu, D. Gurau, A. Ficai, D. Ficai, and E. Andronesu, “Synthesis and applications of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ core-shell materials,” *Curr. Pharm. Des.*, vol. 21, no. 37, 2015.
- [14] M. Anbarasu, M. Anandan, E. Chinnasamy, V. Gopinath, and K. Balamurugan, “Synthesis and characterization of polyethylene glycol (PEG) coated Fe_3O_4 nanoparticles by chemical co-precipitation method for biomedical applications,” *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 135, pp. 536–539, 2015.
- [15] M. F. Tai, C. W. Lai, and S. B. Abdul Hamid, “Facile Synthesis Polyethylene Glycol Coated Magnetite Nanoparticles for High Colloidal Stability,” *J. Nanomater.*, vol. 2016, pp. 1–7, 2016.
- [16] P. Kopel, D. Wawrzak, V. Milosavljevic, A. Moulick, M. Vaculovicova, R. Kizek, and V. Adam, *Nanotransporters for Anticancer Drug Delivery*, vol. 14, 2015.
- [17] M. Arruebo, R. Fernández-Pacheco, M. R. Ibarra, and J. Santamaría, “Magnetic nanoparticles for drug delivery,” *Nano Today*, vol. 2, no. 3, pp. 22–32, Jun. 2007.
- [18] W. Wu, Z. Wu, T. Yu, C. Jiang, and W.-S. Kim, “Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications,” *Sci. Technol. Adv. Mater.*, vol. 16, no. 2, p. 023501, Apr. 2015.
- [19] A. K. Gupta and M. Gupta, “Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications,” *Biomaterials*, vol. 26, no. 18, pp. 3995–4021, Jun. 2005.
- [20] C. Boxall, G. Kelsall, Z. Zhang, M. D. Vásquez, P. Sánchez-Batanero, and A. Sclafani, “Photoelectrophoresis of colloidal iron oxides. Part 2. Magnetite (Fe_3O_4),” *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, vol. 92, no. 5, pp. 791–802, Jan. 1996.
- [21] D. K. Kim, Y. Zhang, W. Voit, K. V. Rao, J. Kehr, B. Bjelke, and M. Muhammed, “Superparamagnetic iron oxide nanoparticles for bio-medical applications,” *Scr. Mater.*, vol. 44, no. 8–9, pp. 1713–1717, 2001.
- [22] A. Wilczewska, K. Niemirowicz, K. Markiewicz, and H. Car, “Nanoparticles as drug delivery systems,” *Pharmacol. Reports*, vol. 64, no. 5, p. 1864–1882., 2012.
- [23] S. Panseri, C. Cunha, T. D’Alessandro, M. Sandri, G. Giavaresi, M. Marcacci, C. T. Hung, and A. Tampieri, “Intrinsically superparamagnetic Fe-hydroxyapatite nanoparticles positively influence osteoblast-like cell behaviour,” *J. Nanobiotechnology*, vol. 10, p. 32, Jul. 2012.

- [24] J. D. G. Durán, J. L. Arias, V. Gallardo, and A. V. Delgado, "Magnetic Colloids As Drug Vehicles," *J. Pharm. Sci.*, vol. 97, no. 8, pp. 2948–2983, Aug. 2008.
- [25] H. Markides, O. Kehoe, R. H. Morris, and A. J. El Haj, "Whole body tracking of superparamagnetic iron oxide nanoparticle-labelled cells--a rheumatoid arthritis mouse model.," *Stem Cell Res. Ther.*, vol. 4, no. 5, p. 126, Oct. 2013.
- [26] Shao-Wen Cao, * Ying-Jie Zhu, Ming-Yan Ma, and Liang Li, and L. Zhang, "Hierarchically Nanostructured Magnetic Hollow Spheres of Fe₃O₄ and γ -Fe₂O₃: Preparation and Potential Application in Drug Delivery," 2008.
- [27] S. Laurent, D. Forge, M. Port, A. Roch, C. Robic, L. Vander Elst, and R. N. Muller, "Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications," *Chem. Rev.*, vol. 108, no. 6, pp. 2064–2110, Jun. 2008.
- [28] Wahajuddin and S. Arora, "Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: magnetic nanoplatforms as drug carriers," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 7, p. 3445, Jul. 2012.
- [29] M. Talelli, C. J. F. Rijcken, T. Lammers, P. R. Seevinck, G. Storm, C. F. van Nostrum, and W. E. Hennink, "Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles Encapsulated in Biodegradable Thermosensitive Polymeric Micelles: Toward a Targeted Nanomedicine Suitable for Image-Guided Drug Delivery," *Langmuir*, vol. 25, no. 4, pp. 2060–2067, Feb. 2009.
- [30] G. Hasenpusch, J. Geiger, K. Wagner, O. Mykhaylyk, F. Wiekhorst, L. Trahms, A. Heidsieck, B. Gleich, C. Bergemann, M. K. Aneja, and C. Rudolph, "Magnetized Aerosols Comprising Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles Improve Targeted Drug and Gene Delivery to the Lung," *Pharm. Res.*, vol. 29, no. 5, pp. 1308–1318, May 2012.
- [31] X.-M. Zhu, J. Yuan, K. C.-F. Leung, S.-F. Lee, K. W. Y. Sham, C. H. K. Cheng, D. W. T. Au, G.-J. Teng, A. T. Ahuja, and Y.-X. J. Wang, "Hollow superparamagnetic iron oxide nanoshells as a hydrophobic anticancer drug carrier: intracellular pH-dependent drug release and enhanced cytotoxicity," *Nanoscale*, vol. 4, no. 18, p. 5744, 2012.
- [32] S. Kim, J.-H. Kim, O. Jeon, I. C. Kwon, and K. Park, "Engineered polymers for advanced drug delivery.," *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 71, no. 3, pp. 420–30, Mar. 2009.
- [33] T. Neuberger, B. Schöpf, H. Hofmann, M. Hofmann, and B. von Rechenberg, "Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: Possibilities and limitations of a new drug delivery system," *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 293, no. 1, pp.

- 483–496, May 2005.
- [34] Q. A. Pankhurst, J. Connolly, S. K. Jones, and J. Dobson, “Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine,” *J. Phys. D. Appl. Phys.*, vol. 36, no. 13, pp. R167–R181, Jul. 2003.
- [35] K. Kaaki, K. Hervé-Aubert, M. Chipier, A. Shkilnyy, M. Souc?, R. Benoit, A. Paillard, P. Dubois, M.-L. Saboungi, and I. Chourpa, “Magnetic Nanocarriers of Doxorubicin Coated with Poly(ethylene glycol) and Folic Acid: Relation between Coating Structure, Surface Properties, Colloidal Stability, and Cancer Cell Targeting,” *Langmuir*, vol. 28, no. 2, pp. 1496–1505, Jan. 2012.
- [36] S. Arpicco, L. Battaglia, P. Brusa, R. Cavalli, D. Chirio, F. Dosio, M. Gallarate, P. Milla, E. Peira, F. Rocco, S. Sapino, B. Stella, E. Ugazio, and M. Ceruti, “Recent studies on the delivery of hydrophilic drugs in nanoparticulate systems,” *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 32, pp. 298–312, Apr. 2016.
- [37] A. Rauf, M. Imran, I. E. Orhan, and S. Bawazeer, “Health perspectives of a bioactive compound curcumin: A review,” *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 74, pp. 33–45, Apr. 2018.
- [38] “irinotecan hydrochloride - Căutare Google.” [Online]. Available: https://www.google.ro/search?safe=active&biw=1440&bih=769&tbm=isch&sa=1&ei=S1IzW_qCBIf2kwWvuIuQAQ&q=irinotecan+hydrochloride&oq=irinotecan+hydrochloride&gs_l=img..3..0i19k1j0i30i19k1.21418.21418.0.21666.1.1.0.0.0.133.133.0j1.1.0....0...1c.1.64.img..0.1.1. [Accessed: 27-Jun-2018].
- [39] K. Fujita, Y. Kubota, H. Ishida, and Y. Sasaki, “Irinotecan, a key chemotherapeutic drug for metastatic colorectal cancer,” *World J. Gastroenterol.*, vol. 21, no. 43, pp. 12234–48, Nov. 2015.
- [40] Y. Yao, P. Zhang, J. Wang, J. Chen, Y. Wang, Y. Huang, Z. Zhang, and F. Xu, “Dissecting Target Toxic Tissue and Tissue Specific Responses of Irinotecan in Rats Using Metabolomics Approach,” *Front. Pharmacol.*, vol. 8, p. 122, 2017.
- [41] “Doxorubicin hydrochloride | C₂₇H₃₀ClNO₁₁ - PubChem.” [Online]. Available: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Doxorubicin_Hydrochloride#section=Top. [Accessed: 27-Jun-2018].