

**RAPORT ȘTIINȚIFIC**  
**pentru Etapa 2 din proiectul**  
*Optimizarea formulării nanovehiculelor pentru îmbunătățirea sistemelor  
terapeutice antitumorale (NanoCanTune)*

**Cod proiect: PN-III-P1-1.1-PD-2021-0786**

**Contract de finanțare: PD66/2022**

**Etapa nr. 2/2023: Stabilitatea nanovehiculelor lipozomale și comportarea într-un mediu biologic (WP2 partea I)**

**Buget etapă: 149.456,00 lei**

**Rezumatul etapei:**

În această etapă, care corespunde lunilor 10-21 de proiect, au fost întreprinse 8 activități în scopul caracterizării comportamentului nanovehiculelor lipozomale ce încapsulează medicamentul antitumoral 5-fluorouracil (5-FU), atât *in vitro*, cât și *in silico*, conform anexei II din contractul de finanțare. De asemenea, s-a atins obiectivul principal din aceasta etapă, și anume **Investigarea stabilității formulărilor lipozomale și a distribuției de medicament în nanovehicul prin simulări de dinamică moleculară (O3)**, și s-a finalizat partea I din ultimul obiectiv din cele 4 propuse în cadrul acestui proiect, și anume **Investigarea comportării formulărilor lipozomale în plasmă de șobolan din punct de vedere al formării coroanei proteice (O4 partea I)**. Două din cele opt activități întreprinse au avut rolul de a complementa informațiile obținute în etapa 1 a proiectului cu privire la caracterizarea fizico-chimică de noi formulări lipozomale cu 5-FU și investigarea *in vitro* a proprietăților de eliberare controlată a 5-FU din lipozomi, de asemenea în concordanță cu anexa II din contractul de finanțare.

În conformitate cu planul de activități, au fost generate 20 formulări lipozomale optimizate cu diferite compoziții lipidice din 1,2-dipalmitoil-*sn*-glicero-3-fosfocolină (DPPC), cu colesterol (CHOL) sau lipidul încărcat pozitiv 1,2-dioleil-3-trimetilamoniu-propan (DOTAP), cu sau fără medicamentul antitumoral 5-FU. Suspensiile lipozomale au fost obținute prin tehnica hidratării filmului lipidic, sonicare și extrudare, pe baza protocolului optimizat în cadrul etapei 1 de proiect. DPPC a fost ales ca lipid principal datorită faptului că s-a observat anterior că formulările cu DSPC (1,2-distearoil-*sn*-glicero-3-fosfocolină) agregă în timp, iar formularea conținând DPPC:CHOL în raport molar 60:40 a permis cea mai bună încapsulare a medicamentului antitumoral 5-FU din punct de vedere al concentrației intraveziculară estimate. Fosfatidilcolina din ou a fost exclusă datorită complexității compoziționale, care face imposibilă modelarea cu exactitate *in silico*. S-au generat modele computaționale pentru toate cele 10 formulări lipozomale, sub formă de dublu strat bilipidic stivuit (în vederea mimării compartimentului intralipozomal), neîncărcate cu 5-FU, precum și câte 3 sisteme cu diverse grade de încărcare a 5-FU pentru fiecare compoziție (21, 42, respectiv 84 molecule de 5-FU), însumând 40 sisteme investigate în detaliu sub formă de dublu strat bilipidic stivuit. Mai mult, s-au generat și 9 sisteme veziculare. S-a studiat comportamentul în plasmă de șobolan a tuturor formulărilor cu 5-FU prin tehnici proteomice și s-au identificat comparativ unele proteine adsorbite la suprafața lipozomilor. Astfel, gradul de realizare a obiectivelor propuse pentru Etapa 2 este de 100%.