

RAPORT ȘTIINȚIFIC FINAL

al proiectului

Optimizarea formulării nanovehiculelor pentru îmbunătățirea sistemelor terapeutice antitumorale (NanoCanTune)

REZUMAT

Proiectul *Optimizarea formulării nanovehiculelor pentru îmbunătățirea sistemelor terapeutice antitumorale* a avut drept **obiectiv general** dezvoltarea de noi vehicule lipozomale ca și sisteme de eliberare controlată pentru agentul antitumoral 5-fluorouracil (5-FU) prin investigarea unor aspecte cheie ale proprietăților și comportării nanovehiculelor într-un context biologic. Atingerea obiectivului general s-a făcut printr-o abordare experimentală multidisciplinară, cuprinzând **tehnici de sinteză și caracterizare fizico-chimică, bioinformatică și proteomică**, ținută către: (1) investigarea stabilității formulărilor lipozomale, și (2) identificarea formulării lipozomale optime pentru care proprietățile de eliberare a medicamentului antitumoral 5-FU sunt prelungite. Ipoteza de la care a pornit prezentul proiect este că ajustarea compoziției învelișului proteic (coroană proteică) format la suprafața lipozomilor atunci când nanovehiculele se regăsesc într-un context biologic poate fi o strategie promițătoare pentru a îmbunătăți specificitatea și eficiența terapeutică. Totodată, descoperirile actuale prezintă rezultate contradictorii privind afinitatea membranelor și permeabilitatea 5-FU în structuri lipozomale, astfel existând o nevoie critică de clarificare și înțelegere profundă a mecanismelor precise implicate în livrarea și distribuția 5-FU în lipozomi. Astfel, identificarea unei formulări lipozomale care prezintă un profil optim de eliberare prelungită pentru 5-FU, combinată cu stabilitate într-un context biologic este imperios necesară pentru dezvoltarea de noi terapii anticancer cu cinetică îmbunătățită de eliberare.

În mod concret, în cadrul acestui proiect s-a utilizat o abordare **multidisciplinară**, care a inclus atât **tehnici de sinteză și caracterizare fizico-chimică**, cât și utilizarea unor **metode de modelare moleculară și proteomică** pentru ducerea la bun sfârșit a obiectivelor propuse. În primă fază, s-au preparat nanovehicule lipozomale având diferite compoziții lipidice, cu sau fără medicamentul antitumoral 5-FU, prin tehnica hidratării filmului subțire. Nanovehiculele au fost caracterizate în detaliu prin metode fizico-chimice variate, inclusiv difuzia luminii în regim dinamic (DLS) și microscopia electronică de transmisie (TEM), iar pentru cele cu 5-FU s-a determinat eficiența de încapsulare și proprietățile de eliberare controlată *in vitro* a medicamentului. Astfel, s-au putut identifica formulările cu 5-FU cu cea

mai bună cinetică de eliberare, precum și scoate în evidență care sunt parametrii compoziționali care influențează eficiența de încapsulare. În plus, a fost studiată comportarea nanovehiculelor într-un context biologic în vederea descrierii coroanei proteice prin caracterizarea profilurilor electroforetice la fiecare compoziție. În materie de modelare moleculară s-a descris în detaliu influența compoziției lipidice asupra distribuției 5-FU în sisteme membranare (Figura 1), cu identificarea de concordanțe parțiale între rezultatele computaționale și cele experimentale.

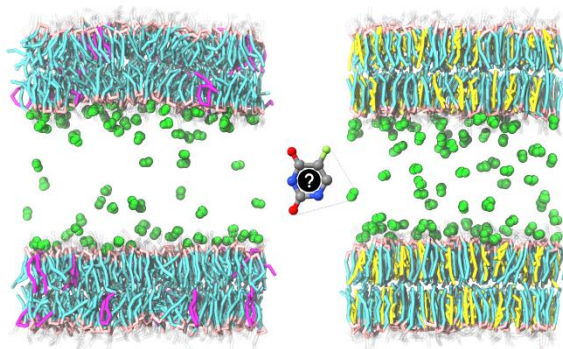


Figura 1. Reprezentare schematică a influenței compoziției lipidice asupra preferinței moleculei 5-FU pentru diverse regiuni din sistemele moleculare simulate; Lanțurile de carbon ale fosfolipidului DPPC sunt colorate în turcoaz, lipidul colesterol în galben, iar lipidul încărcat pozitiv DOTAP în magenta. 5-FU este reprezentat ca sfere verzi.

Astfel, am putut sublinia provocările în transpunerea directă a modelelor moleculare în realități experimentale și implicit, echilibrul complex între compoziția lipidică, eficiența de încapsulare și cinetica de eliberare din sistemele lipozomale cu 5-FU. Concret, rezultatele generate în cadrul acestui proiect au scos în evidență importanța unei abordări integrate, combinând metodologiile computaționale și experimentale, pentru a desluși complexitatea interacțiunilor medicament-membrane lipidice în vederea dezvoltării de noi nanovehicule lipozomale mai eficiente. Rezultatele experimentale ale acestui proiect ar trebui să aibă un impact puternic din punct de vedere științific, având o relevanță fundamentală deosebită. Totodată, sistemele lipozomale obținute, cu precădere cel cu 10 mol% DOTAP, care prezintă un profil de eliberare optim pentru medicamentul antitumoral 5-FU, și care nu suferă alterații fizico-chimice semnificative într-un context biologic, prezintă un potențial aplicativ ridicat datorită profilului de eliberare îmbunătățit și implicit, a minimizării administrării dozelor repetate de medicament pentru obținerea efectului terapeutic scontat. Mai mult, aceste sisteme pot sta la baza dezvoltării de alte noi formulări cu proprietăți îmbunătățite. Cel mai semnificativ rezultat al proiectului îl reprezintă publicațiile, un articol fiind deja acceptat spre publicare în revista științifică *ACS Omega*, împreună cu un Supplementary Cover Art, care va facilita vizibilitatea acestuia în rândul cititorilor jurnalului, și alte două fiind în evaluare în

reviste științifice aflate în top 25% cele mai relevante din domeniul de care aparțin (*Scientific Reports* și *Molecular Pharmaceutics*). Factorul de impact cumulat al revistelor care au acceptat sau au în curs de evaluare manuscrise cu rezultate din prezentul proiect este >10, ceea ce sugerează un impact excelent asupra comunității științifice. Directorul de proiect a participat la 4 conferințe internaționale și a efectuat o mobilitate în Cluj-Napoca, pentru participare la workshop-ul "A week-long exploration of Quantum Chemistry through Jupyter Notebooks", astfel că **toți indicatorii cu privire la diseminarea rezultatelor au fost îndepliniți**. De asemenea, directorul de proiect a demonstrat cu succes punerea bazelor direcției de cercetare în domeniul lipozomilor la instituția gazdă, lucru ce va îmbunătăți și întări direcția de cercetare nanomedicină a instituției, obiectiv propus prin proiectul H2020-ERA-Chairs (nr. 952390), care se află în desfășurare la aceeași instituție gazdă.

Director Proiect,
Dr. Pomohaci Roxana-Maria