

## Raport științific și tehnic - Etapa a 2-a/2023

### Dezvoltarea unor sisteme de tip silice mezoporoasă funcționalizată cu derivați de acid boronic pentru terapia cu captare de protoni cu bor pentru terapia cu protoni îmbunătățită

#### Rezumat

În această etapă s-a optimizat sinteza silicei mezoporoase funcționalizată cu acid *para*-carboxifenil boronic (CPBA) și de asemenea s-a pus la punct metoda de funcționalizare cu grupări de acid *meta*-aminofenil boronic ceea ce corespunde cu obiectivul (O1) al proiectului-*obținerea nanoparticulelor de silice mezoporoasă funcționalizată cu derivați boronici (MSN-B)*. Materialele MCM-41 și SBA-15 funcționalizate cu CPBA (denumite MCM-CPBA, respectiv SBA-CPBA) au fost utilizate ca transportori pentru doxorubicină și împreună cu aceasta pentru resveratrol ceea ce corespunde cu obiectivul O2-*adsorbția unui agent antitumoral în transportorii de silice funcționalizați cu derivați de acid fenilboronic*. S-au obținut 4 sistemele cu eliberare de doxorubicină, respectiv doxorubicină și resveratrol care au fost caracterizate prin difracție de raze X ce a demonstrat prezența substanțelor biologice active în stare amorfă în mezoporii silicei, spectroscopie FTIR care a evidențiat interacții puternice între agentul citostatic și transportor, precum și prin analiză termogravimetrică pentru determinarea conținutului de substanțe biologice active.

S-au determinat profilele de eliberare ale doxorubicinei și ale resveratrolului în soluție tampon de fosfat (PBS) pH 5.5 și 7,4. Pe lângă eliberarea doxorubicinei, a fost observată ruperea derivatului boronic, practic având loc reacția de hidroliză a acidului *p*-carboxifenilboronic, CPBA. Eliberarea doxorubicinei (Dox) încapsulate în suportul silice este mai lentă în comparație cu dizolvarea acesteia în PBS pH 5,5, probabil ca urmare a interacțiilor puternice medicament-transportor. Dacă se compară cele două formulări Dox@MCM-CPBA și Dox,Resv@MCM-CPBA se poate observa că prezența resveratrolului determină o cinetică mai rapidă de eliberare a agentului citostatic, precum și un procent mai mare de doxorubicină eliberată în 24 h atunci când cele două substanțe sunt prezente amândouă în formulare.

Evaluarea citotoxicității *in vitro* a sistemelor cu eliberare țintită ce conțin drept transportor, MCM-CPBA și SBA-CPBA și doxorubicină, respectiv doxorubicină și resveratrol, s-a efectuat pe fibroblaste umane dermale BJ și pe celule tumorale de cancer ductal de sân BT474, ceea ce corespunde cu obiectivul O3 - *evaluarea citotoxicității MSN-B și MSN-B-At*. S-a constatat o citotoxicitate mai mare pe celulele tumorale a Dox@MCM-CPBA și Dox,Resv@MCM-CPBA decât pe fibroblastele BJ. De asemenea, prezența resveratrolului în formulare, potențiază efectul citotoxic al doxorubicinei, probabil ca urmare a unei cantități mai mari de agent citostatic eliberat.

Internalizarea NP de MSN-B și sistemele pe bază de doxorubicină în celule BT474 și în fibroblaste BJ a fost evaluată prin microscopie hiperspectrală ceea ce corespunde cu obiectivul (O5)-*evaluarea internalizării transportorului de silice funcționalizat cu grupări de acid fenilboronic și a sistemelor cu eliberare țintită de agent antitumoral prin microscopie hiperspectrală*. Aplicând procedura SAM urmată de un tool creat în această etapă, "COUNTRED", s-a determinat procentul de internalizare pentru probele de Dox, MCM-CPBA și Dox@MCM-CPBA pentru linia celulară BT474 rezultând că Dox@MCM-CPBA are procentul cel mai mare. Comparând cele două linii celulare tratate cu NP de DOX@MCM-CPBA se observă o internalizare mult mai bună a NP pentru linia celulară tumorală.

Tratamentul de iradiere cu protoni a adus o modificare semnificativă asupra supraviețuirii celulelor tumorale, în plus față de tratament cu NP, la dozele de 2 Gy, respectiv 4 Gy, pentru toate concentrațiile testate în studiu. Astfel, putem afirma că pentru aceste condiții experimentale, tratamentul combinat cu NP de Resv@MCM-CPBA și protoni conduce la o creștere a citotoxicității împotriva celulelor de cancer, comparativ cu probele doar iradiate sau doar expuse tratamentului cu NP.

Rezultatele obținute în această etapă au fost diseminate în 4 conferințe internaționale, o cerere de brevet și un articol ISI ce va fi trimis în decembrie ce va conține datele din cererea de brevet.