



ACADEMIA ROMÂNĂ



Institutul de Chimie Macromoleculară “Petru Poni” Iași

Sisteme nanostructurate cu aplicații biomedicale

Rezumat teză de doctorat

Coordonator științific

CSI Dr. Mariana Pinteală

Doctorand

Bioing. Ana-Lăcrămioara Lungoci

Iași, 2020

Academia Română
Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” Iași

Nr. 3044./21.05.2020

Doamnei/Domnului.....

Vă facem cunoscut faptul că în ziua de 19 iunie 2020, ora 12:00, Institutul de Chimie Macromoleculară “Petru Poni” Iași, va organiza în conformitate cu reglementările în vigoare, susținerea publică a tezei de doctorat intitulată **“Sisteme nanostructurate cu aplicații biomedicale”**, autor **Lungoci Ana Lăcrămioara**, în vederea conferirii titlului științific de doctor.

Comisia de doctorat are următoarea componență:

Președinte: **Dr. Valeria Harabagiu**, Director al Institutului de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” din Iași

Conducător de doctorat: **Dr. Mariana Pinteală**, Institutul de Chimie Macromoleculară “Petru Poni” din Iași

Referenți:

1. **Prof. Liliana Vereștiuc**, Universitatea de Medicină și Farmacie “Grigore T. Popa” din Iași
2. **Dr. Habil. Iuliana Spiridon**, Institutul de Chimie Macromoleculară “Petru Poni” din Iași
3. **Prof. Mihail Lucian Bîrsa**, Universitatea “Alexandru Ioan Cuza” din Iași

În conformitate cu Regulamentul privind organizarea și desfășurarea doctoratului pentru acordarea titlurilor științifice în Academia Română, vă trimitem rezumatul tezei de doctorat cu rugămintea de a ne comunica aprecierile și observațiile dumneavoastră. Cu această ocazie vă invităm să participați la susținerea publică a tezei de doctorat.

Link-ul de acces pentru susținerea online va fi publicat pe site-ul SCOSAAR.



DIRECTOR,

Dr. Valeria Harabagiu

Sincere mulțumiri și recunoștință conducătorului de doctorat CSI Dr. Mariana Pinteală pentru sprijinul și îndrumările acordate pe parcursul elaborării și redactării tezei de doctorat.

Recunoștință și alese mulțumiri domnului CS, Dr. Adrian Fifere pentru continua îndrumare și ajutorul acordate în timpul formării mele profesionale.

Mulțumiri colegilor mei: Anca, Ioana, Irina, Natalia, Dragoș, Alex și Adrian pentru susținerea acordată și multele momente frumoase petrecute împreună.

Un gând deosebit tuturor celor care au crezut în mine și m-au încurajat în această perioadă prin prietenia și sfaturile lor.

Mulțumesc Academiei Române pentru bursa acordată și proiectelor SupraChem Lab Horizon 2020 Era Chairs, 5DnanoP și INTERA pentru sprijin.

Dedic această teză părinților mei, care mi-au fost alături în momentele grele și m-au susținut în toți acești ani.

Cuprins

Capitolul I. Aspecte generale ale sistemelor nanostructurate pentru aplicații biomedicale .	10
I.1. Nanotehnologii - aspecte generale. Proprietățile la scară nanometrică	10
I.2. Nanoparticule magnetice cu aplicații biomedicale.....	17
I.2.1. Metode de sinteză ale nanoparticulelor magnetice	20
I.2.2. Caracteristici ale nanoparticulelor magnetice	27
I.2.3. Aplicații biomedicale ale nanoparticulelor magnetice.....	33
9I.3. Sisteme nanostructurate cu proprietăți antioxidante	41
I.3.1. Antioxidanți și stres oxidativ.....	42
I.3.2. Metode <i>in vitro</i> pentru evaluarea activității antioxidante.....	43
I.3.3. Sinergismul antioxidantilor	44
I.3.4. Nanoparticule de ceriu	44
Capitolul II. Sinteza și caracterizarea nanoparticulelor magnetice cu proprietăți antioxidante.	46
<i>Subcapitolul II.1.</i> Nanoparticule magnetice acoperite cu polietilenimină și încărcate cu acid protocatehuic sau cu complexul de incluziune β -ciclodextrină/acid protocatehuic ..	48
II.1.1. Sinteza și caracterizarea complexului de incluziune sulfobutil eter- β -ciclodextrină/acid protocatehuic (SBE β CD/APC).....	50
II.1.2. Sinteza și caracterizarea fizico-chimică și biologică ale NPM, MPEI, MPEI-APC și MPEI- SBE β CD	54
II.1.3. Concluzii	56
<i>Subcapitolul II.2.</i> Nanoparticule magnetice acoperite cu dextran biosintetizat și încărcate cu acid protocatehuic	57

II.2.1. Sinteza și caracterizarea fizico-chimică și biologică ale nanoparticulelor magnetice acoperite cu dextran și încărcate cu acid protocatehuic cu proprietăți antioxidante	77
II.2.2. Nanoparticule magnetice pe baza de magnetită acoperite cu dextran și încărcate cu propiconazol, cu proprietăți antifungice.....	86
II.2.3. Concluzii	89
<i>Subcapitolul II.3. Nanoparticule magnetice conjugate cu nanoparticule de oxid de ceriu cu proprietăți de captare a radicalilor liberi</i>	91
II.3.1. Sinteza nanoparticulelor pe bază de oxid de ceriu acoperite cu polietilenimină reticulată cu aldehydă glutarică (CePEI-GA-PEI).....	92
II.3.2. Sinteza nanoparticulelor pe bază de magnetită acoperite cu polietilenimină reticulată cu aldehydă glutarică (MPEI-GA).....	94
II.3.3. Sinteza conjugatelor pe bază de nanoparticule magnetice și nanoparticule de oxid de ceriu (MCePEI-GA-PEI).....	95
II.3.4. Caracterizare structurală și morfologică	96
II.3.5. Studiul proprietăților magnetice	104
II.3.5. Studiul proprietăților biologice	106
II.3.6. Concluzii	113
Capitolul III. Concluzii generale	114
Capitolul IV. Materiale și metode.....	121
IV.1. Materiale și reactivi	121
IV.2. Sinteza chimică a compușilor	125
125IV.4. Caracterizarea fizico-chimică	130
IV.5. Caracterizarea structurală și a compoziției.....	133
Referințe bibliografice.....	137

Abrevieri

NPM – nanoparticule magnetice;

PEI – polietilenimină;

SBE β CD - sulfobutil eter- β -ciclodextrină;

APC– acid protocatehuic;

SBE β CD/APC – complex de incluziune al sulfobutil eter- β -ciclodextrinei cu acidul protocatehuic;

MPEI - nanoparticule de magnetită acoperite cu polietilenimină ramificată;

MPEI-APC – nanoparticule de magnetită acoperite cu polietilenimină ramificată și încărcate cu acid protocatehuic;

MPEI-SBE β CD/APC - nanoparticule de magnetită acoperite cu polietilenimină ramificată și încărcate cu complexul de incluziune al sulfobutil eter- β -ciclodextrinei cu acidul protocatehuic;

MDex – nanoparticule de magnetită acoperite cu dextran biosintetizat;

MDex-APC – nanoparticule de magnetită acoperite cu dextran și încărcate cu acid protocatehuic;

MDex1%, MDex2% - nanoparticule de magnetită acoperite cu dextran biosintetizat care au fost sintetizate cu ajutorul unei soluții cu o concentrație de 1%, respectiv 2% de dextran biosintetizat;

PP - propiconazol;

MDex2%-PP - nanoparticule de magnetită acoperite cu dextran biosintetizat care au fost sintetizate cu ajutorul unei soluții cu o concentrație de 2% de dextran biosintetizat și care au fost încărcate cu propiconazol;

CeNP – nanoparticule de oxid de ceriu:

CePEI - nanoparticule de oxid de ceriu acoperite cu polietilenimină ramificată;

CePEI-GA-PEI - nanoparticule de oxid de ceriu acoperite cu polietilenimină ramificată și reticulată cu aldehydă glutarică;

MPEI-GA – nanoparticule de magnetită acoperite cu polietilenimină reticulată cu aldehydă glutarică, care conține grupe aldehydice active.

GA – aldehydă glutarică;

MCePEI-GA-PEI – conjugate de nanoparticule de magnetită și oxid de ceriu interconectate de polietilenimină reticulată cu aldehydă glutarică.

PBS - soluție salină tamponată cu fosfat;

CeNP - nanoparticulele de oxid de ceriu;

SOD - superoxid dismutaza;

MIC – concentrație minimă inhibitoare;

DLS - difuziei dinamice a luminii;

TEM - microscopia electronică de transmisie;

DSC – calorimetrie cu scanare diferențială;

FT-IR - spectroscopia în infraroșu cu transformată Fourier;

RMN - spectroscopia de rezonanță magnetică nucleară;

DRX – difracția cu raze X;

XPS - spectroscopia fotoelectronică de raze X;

Introducere

În ultimele două decenii nanomedicina a cunoscut o dezvoltare spectaculoasă, fiind unul dintre cele mai importante domenii de cercetare deoarece se adresează, în special, rezolvării unor disfuncționalități apărute în organismelor vii.

Nanomedicina utilizează diferite tipuri de sisteme nonstructurate pentru diagnostic sau/și livrare de cantități exacte de principii active în anumite părți ale corpului unde există o disfuncționalitate, fără a perturba celulele normale, făcându-le o opțiune viabilă în a rezolva existența problemelor critice în organismele vii

Lucrarea este alcătuită din două părți: partea I, o parte teoretică, ce evaluează stadiul actual al cercetărilor din domeniul nanoparticulelor magnetice și partea II, o parte experimentală, ce prezintă unele rezultate originale.

Capitolul I, intitulat *Aspecte generale ale sistemelor nanostructurate pentru aplicații biomedicale* este împărțit la rândul său în trei subcapitole: Subcapitolul I.1 detaliază proprietățile generale ale sistemelor nanostructurate; Subcapitolul I.2 prezintă nanoparticulele magnetice, explicând proprietățile și aplicațiile lor biomedicale; iar Subcapitolul I.3 examinează diversele sisteme antioxidante, compuse din substanțe organice naturale, și anorganice, de sinteza.

Capitolul II, *Sinteza și caracterizarea nanoparticulelor magnetice cu proprietăți antioxidante* este împărțit în trei subcapitole: Subcapitolul II.1 are în vedere sinteza și caracterizarea unor nanoparticule magnetice pe bază de magnetită și polietilenimină, încărcate cu acid protocatehuic., un agent antioxidant. Subcapitolul II.2 tratează de o manieră similară nanoparticulele pe bază de magnetită și dextran, încărcate cu propiconazol, cu proprietăți antifungice. Al treilea subcapitol, II.3, prezintă nanoparticule magnetice conjugate cu nanoparticule pe bază de oxid de ceriu, cu rol de captare a radicalilor liberi.

Capitolul III prezintă concluziile generale ale tezei iar **Capitolul IV**, *Materiale și metode* cuprinde materialele utilizate în sinteza și caracterizarea nanoparticulelor, precum și principalele metode de caracterizare ale acestora.

Diseminarea rezultatelor obținute a fost realizată în 3 publicații în reviste cotate ISI și prezentate la 9 manifestări naționale și internaționale.

Capitolul II. Sinteza și caracterizarea nanoparticulelor magnetice cu proprietăți antioxidante.

Acest capitol cuprinde rezultate obținute în urma sintezei și caracterizării unor sisteme nanostructurate pe bază de magnetită cu structură de tip miez-coajă și încărcate cu agenți antioxidanți. Datorită proprietăților paramagnetice, aceste sisteme sunt interesante datorită potențialelor aplicații în tratamentul restenozei după intervenția percutanată coronariană, fenomen ce are la bază stresul oxidativ local. Pentru realizarea acestui scop s-au avut în vedere mai multe obiective principale:

- 1. Sinteza și caracterizarea NPM prin reacția de coprecipitare.*
- 2. Prepararea și caracterizarea NPM acoperite cu polietilenimină ramificată (MPEI), cu structură miez-coajă.*
- 3. Obținerea și caracterizarea conjugatelor MPEI încărcate cu acid protocatehuic (MPEI-APC), cu proprietăți antioxidante cu rol de a reduce radicalii liberi de oxigen.*
- 4. Obținerea și caracterizarea nanoparticulelor MPEI încărcate cu complexul de incluziune β -ciclodextrină/acid protocatehuic (MPEI-SBE β CD/APC), cu proprietăți antioxidante cu rol de a reduce radicalii liberi de oxigen.*
- 5. Obținerea și caracterizarea nanoparticulelor NPM acoperite cu dextran biosintetizat (MDex).*
- 6. Obținerea și caracterizarea conjugatelor MDex încărcate cu acid protocatehuic (MDex-APC), cu proprietăți antioxidante cu rol de a reduce radicalii liberi de oxigen.*
- 7. Obținerea și caracterizarea nanoparticulelor NPM acoperite cu PEI reticulat cu anhidridă glutarică (MPEI-GA).*
- 8. Obținerea și caracterizarea nanoparticulelor de oxid de ceriu acoperite cu PEI reticulat cu anhidridă glutarică (CePEI-GA-PEI) cu proprietăți antioxidante cu rol de a reduce radicalii liberi de oxigen.*
- 9. Obținerea și caracterizarea conjugatelor pe bază de MPEI-GA și (CePEI-GA-PEI), cu proprietăți antioxidante cu rol de a reduce radicalii liberi de oxigen.*

Subcapitolul II.1. Nanoparticule magnetice acoperite cu polietilenimină și încărcate cu acid protocatehuic sau cu complexul de incluziune β -ciclodextrină/acid protocatehuic

Cercetarea de față a avut în vedere utilizarea NPM încărcate cu APC ca terapie adjuvantă în cazul intervențiilor percutanate coronariene din terapia aterosclerozei. Se consideră că stresul oxidativ și disfuncțiile endoteliale de la nivelul vasului de sânge produc restenozarea după o anumită perioadă de la aplicarea stentului metalic, proces care poate fi întârziat sau chiar stopat prin utilizarea locală a unor terapii cu antioxidanți capabili să capteze și să inactiveze radicalii liberi. Pentru creșterea solubilității și a biodisponibilității APC, au fost sintetizate și MPEI încărcate cu un complex de incluziune (SBE β CD/APC), nanoparticula formată prin înglobarea APC în cavitatea sulfobutil eter- β -ciclodextrinei (SBE β CD) ca în [Figura 1.](#); nanoparticulele magnetice rezultate au fost notate cu MPEI-SBE β CD/APC.

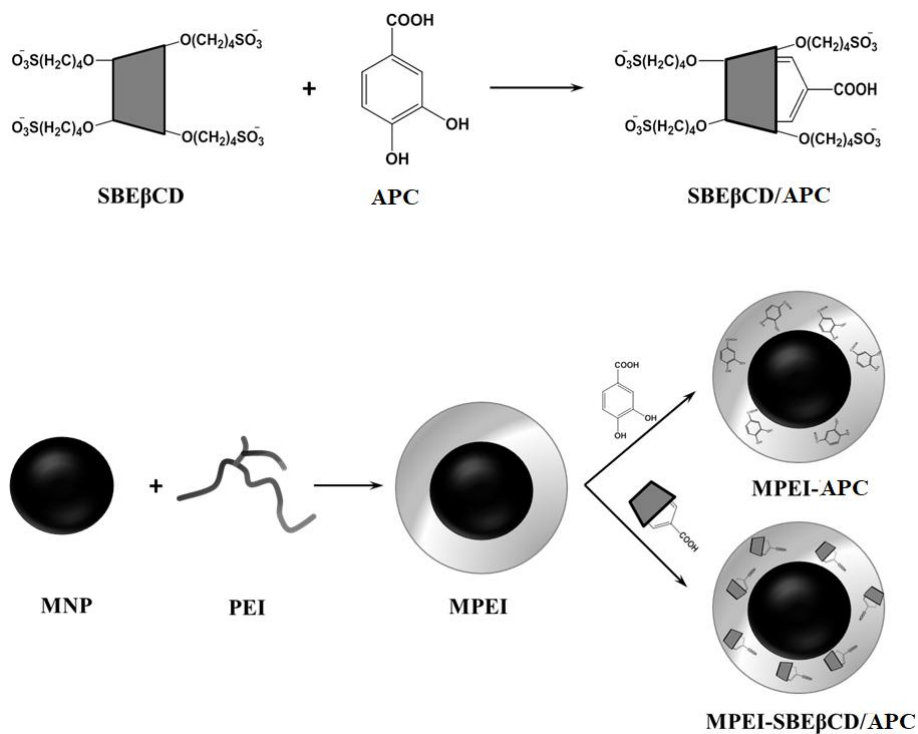


Figura 1. Reprezentare schematică a sintezei SBE β CD/APC, MPEI, MPEI-APC și MPEI-SBE β CD/APC.

Sinteza și caracterizarea complexului de incluziune sulfobutil eter- β -ciclodextrină/acid protocatehuic (SBE β CD/APC)

S-a realizat un amestec de SBE β CD și APC în raport molar 1:1 într-o cantitate adecvată de apă deionizată, sub agitare magnetică. După adăugarea APC-ului în balonul de reacție, în exces față de cantitatea impusă de solubilitatea acestuia în apă, s-a observat limpezirea treptată a soluției, ceea ce a confirmat indirect formarea complexului de incluziune. Amestecul a fost lăsat sub agitare timp de 3 zile, după care soluția transparentă rezultată a fost liofilizată, iar pudra albă obținută a fost utilizată fără o separare ulterioară a compușilor nereacționați.

Caracterizarea prin RMN a complexului de incluziune

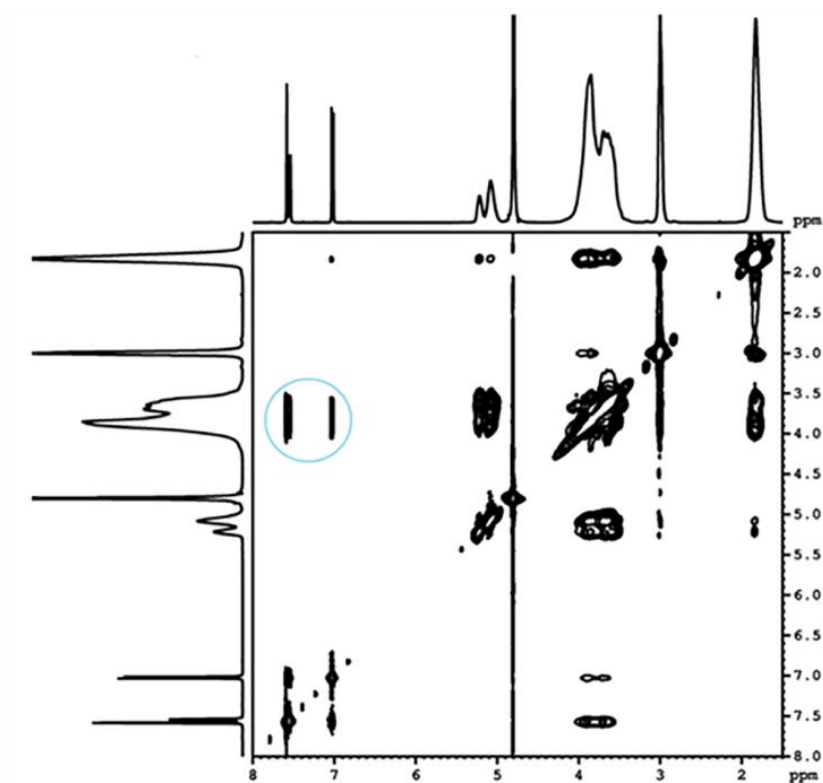


Figura 2. Spectrul ROESY 2D RMN al complexului de incluziune SBE β CD/APC.

Spectrul ROESY 2D RMN al complexului de incluziune SBE β CD/APC (Figura 2) indică existența semnalelor încrucișate intermoleculare NOE între semnalele protonilor fenolici ai APC și protonii localizați înăuntrul cavității ciclodextrinei (H3, H5).

Sinteza și caracterizarea fizico-chimică și biologică ale NPM, MPEI, MPEI-APC și MPEI-SBE β CD

Sinteza NPM a fost realizată prin reacția de co-precipitare, folosind un amestec de săruri FeCl₃×6H₂O și FeCl₂×4H₂O astfel încât să se obțină un raport molar Fe²⁺/Fe³⁺=0,5, prin care se estimează că se obțin particule de magnetită cu diametrul cuprins între 10-20 nm.

S-au preparat două soluții apoase prin dizolvarea unor săruri de FeCl₃×6H₂O și FeCl₂×4H₂O într-o cantitate potrivită de apă, astfel încât concentrația masică a amestecului de săruri în reacție să nu depășească 8-10%. Amestecul de reacție a fost menținut sub atmosferă de azot cu agitare mecanică viguroasă. Reacția a avut loc în intervalul de temperatură 70-80 °C, în mediu bazic asigurat de o soluție apoasă amoniacală, timp de 25-30 de minute (ecuația reacției 1.1).



Pentru acoperirea nanoparticulelor, o soluție de PEI 10% s-a adăugat peste o cantitate adecvată de NPM neacoperite. Suspensia astfel obținută a fost supusă ultrasonării timp de 3 minute, apoi agitată mecanic timp de 2 h. Această operațiune a fost necesară pentru a favoriza legarea electrostatică a PEI-ului încărcat pozitiv de suprafața încărcată negativ a nanoparticulelor.

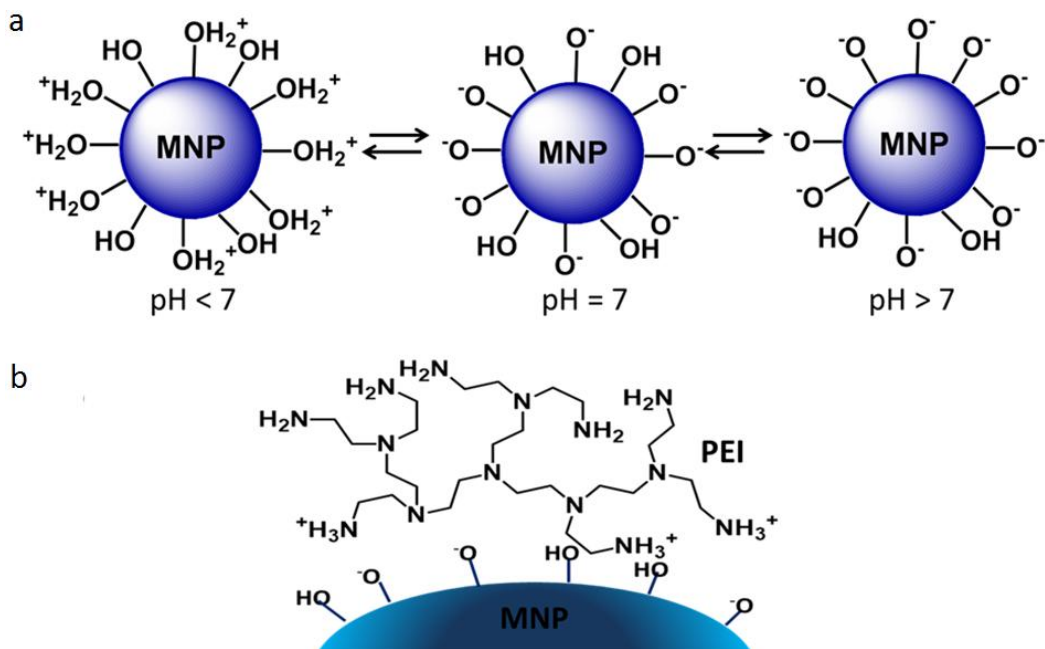


Figura 3. Ilustrarea proceselor chimice de la suprafața NPM în funcție de pH (a) și a interacțiunilor dintre PEI și NPM (b).

Studiul de față s-a axat pe funcționalizarea NPM cu APC, un antioxidant fenolic natural puternic întâlnit în diverse specii de plante. În prima etapă, peste o dispersie apoasă MPEI s-a adăugat o soluție apoasă de APC. Suspensia rezultată a fost supusă ultrasonării timp de 2-10 minute și menținută sub agitare ușoară minim 2 h pentru atingerea echilibrului termodinamic. Astfel are loc interacțiunea APC cu PEI (încărcat parțial pozitiv în mediu neutru) care este majoritar de natura electrostatica, datorită disocierii acido-bazice a APC.

Caracterizarea prin DRX

Difracția de raze X a fost realizată pentru a confirma natura cristalină a nanoparticulelor magnetice. Aceasta a indicat principalele plane de reflecție prin indicii Miller (220), (311), (400), (511) și (440) care pot fi atribuite structurii de spinel cubic invers al magnetitei (Figura 4).

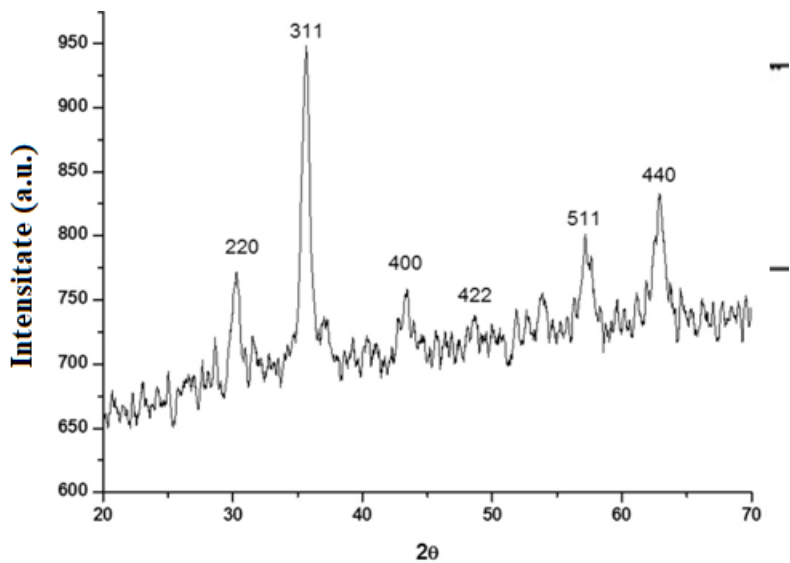


Figura 4. Spectrele de difracție de raze X ale magnetitei.

Caracterizarea prin studii de microscopie electronică de transmisie (TEM).

Tehnica TEM a permis studierea morfologiei și măsurarea diametrului mediu absolut ale NPM neacoperite. NPM au un diametru mediu de 7,5 nm, prezentând o formă sferică uniformă. Acoperirea NPM cu PEI și încărcarea cu APC sau cu complexul de incluziune SBE β CD/APC nu a modificat forma sferică a conjugatelor finale, însă a condus la o creștere subtilă a diametrului mediu de la 7,5 nm la 11 nm și respectiv 13 nm.

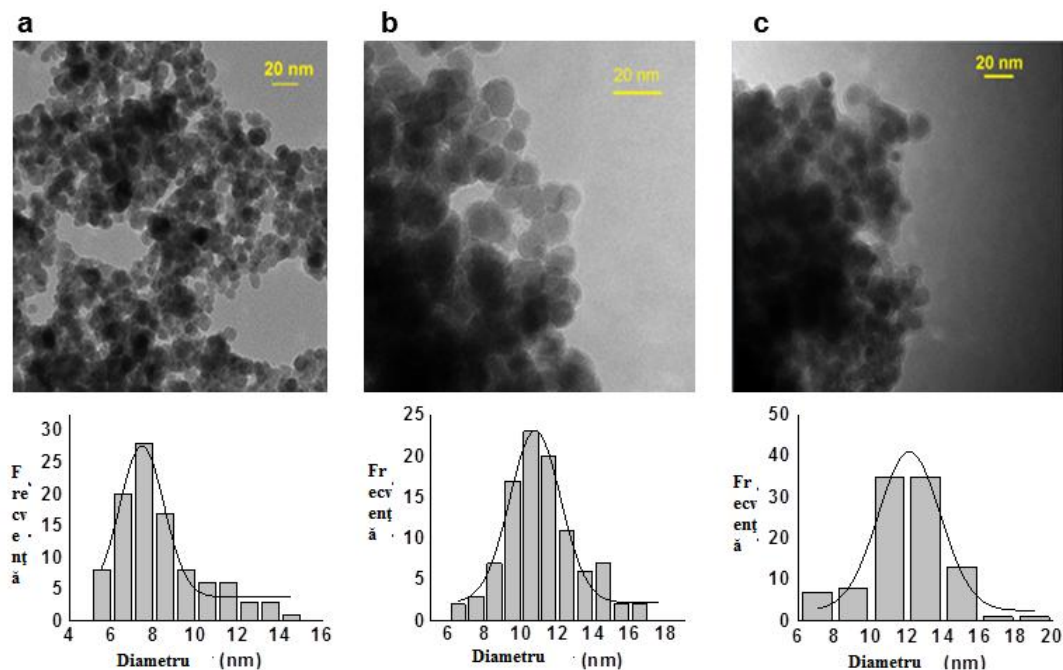


Figura 5. Imagini TEM și distribuția dimensională corespunzătoare pentru: (a) NPM; (b) MPEI-APC; (c) MPEI-SBEβCD/APC.

Analiza nanoparticulelor dispersate in apă prin tehnica difuziei dinamice a luminii

Măsurătorile făcute cu difuzia dinamică a luminii (DLS) au arătat că NPM prezintă un diametru hidrodinamic de 480 nm în apă. De asemenea, măsurătorile de potențial zeta indică o valoare negativă de -24 mV la pH 11 și -1 mV la pH 7. Prin acoperirea nanoparticulelor magnetice cu PEI are loc o creștere a diametrului hidrodinamic la 690 nm. Această valoare ridicată este dată de solvatarea și expandarea catenelor de PEI în apă. Măsurătorile de potențial zeta ale conjugatelor MPEI indică o valoare mare pozitivă de +43 mV, confirmând adsorbția PEI pe suprafața NPM.

Studiul proprietăților redox al nanoparticulelor prin investigații electrochimice

Voltamogramele NPM neacoperite depuse pe un electrod de carbon serigrafiat indică prezența unui cuplu redox la 0.4-0.7 V datorită proceselor de transformare Fe^{2+} - Fe^{3+} (Figura 6). Semnalele redox ale nanoparticulelor magnetice au fost diminuate în mod dramatic după acoperirea cu PEI datorită efectului de ecranare al straturilor de polimer asupra tranziției Fe^{2+} - Fe^{3+} . Încărcarea MPEI cu APC sau SBEβCD-APC conduce la apariția semnalelor caracteristice

ale APC, demonstrând atât capacitatea redox a APC cât și a SBE β CD/APC după includerea în stratul PEI.

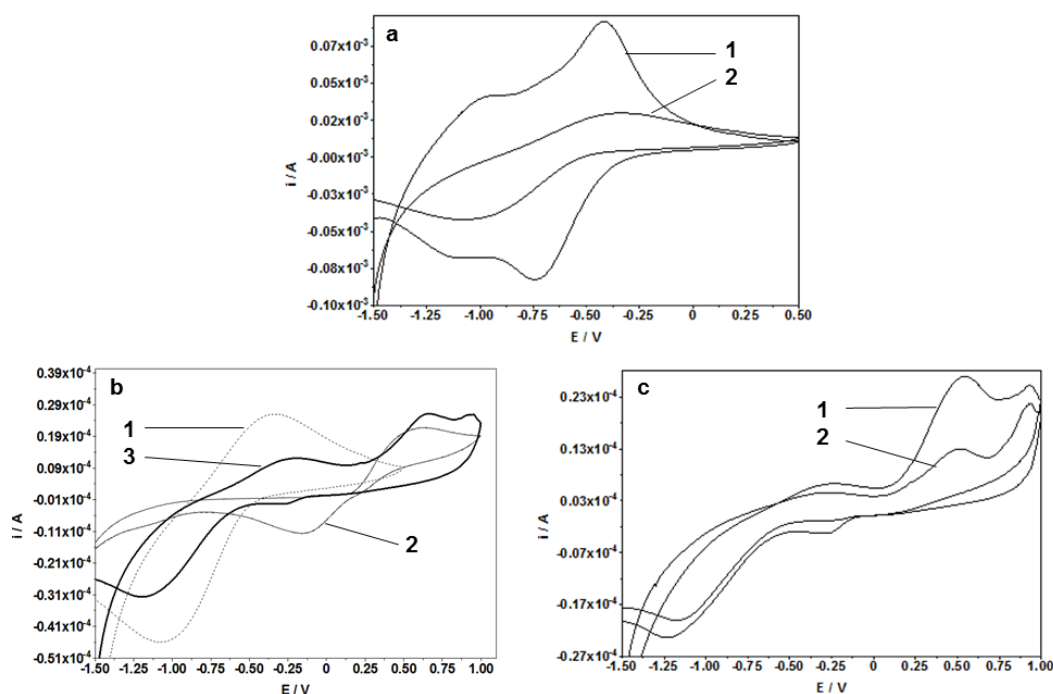


Figura 6. Voltamogramele ciclice ale: a) NPM (curba 1) și MPEI(curba 2); b) MPEI(curba 1), APC (curba 2), MPEI-APC (curba 3); c) MPEI-APC (curba 1), MPEI-SBE β CD/APC (curba 2).

Evaluarea proprietăților termice prin calorimetria cu scanare diferențială

După acoperirea nanoparticulelor magnetice cu PEI, T_g migrează spre domenii de temperatură mai înalte ($-31\text{ }^\circ\text{C}$) datorită reducerii volumului liber al macromoleculor de PEI datorat creșterii semnificative a împachetării PEI favorizată de interacțiunile cu suprafața NPM prezente în MPEI.

Rezultatele obținute prin analiza curbelor DSC sunt în bună concordanță cu cele obținute la analiza imaginilor TEM, care a arătat că diametrul MPEI- SBE β CD/APC este superior nanoparticulelor MPEI-APC datorită diferențelor între volumele moleculare ale APC și SBE β CD/APC. Acest aspect se reflectă în curba de încălzire a probei MPEI-SBE β CD/APC, unde valoarea T_g este de $-30\text{ }^\circ\text{C}$, aproape de $-34\text{ }^\circ\text{C}$.

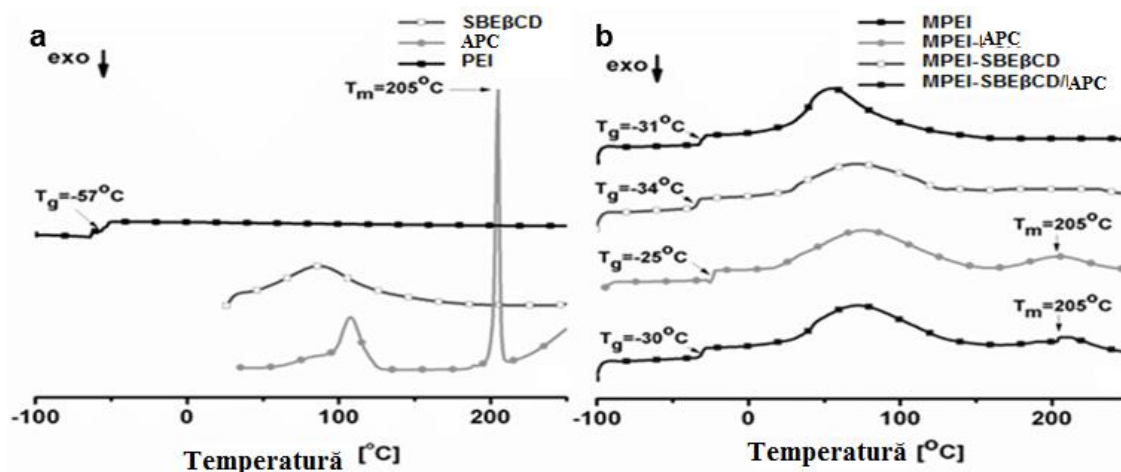


Figura 7. a) Curbele DSC ale PEI, APC și SBEβCD în stare liberă; b) curbele DSC ale MPEI, MPEI-APC, MPEI-SBEβCD și a conjugatelor MPEI-SBEβCD/APC

Studiul proprietăților magnetice ale MNP și MPEI

Magnetizația de saturație a nanoparticulelor neacoperite este de 70.63 emu/g, și respectiv 68.37 emu/g pentru MPEI. De asemenea, scăderea magnetizației de saturație prin învelirea NPM cu un strat polimeric este în concordanță cu datele de literatură.

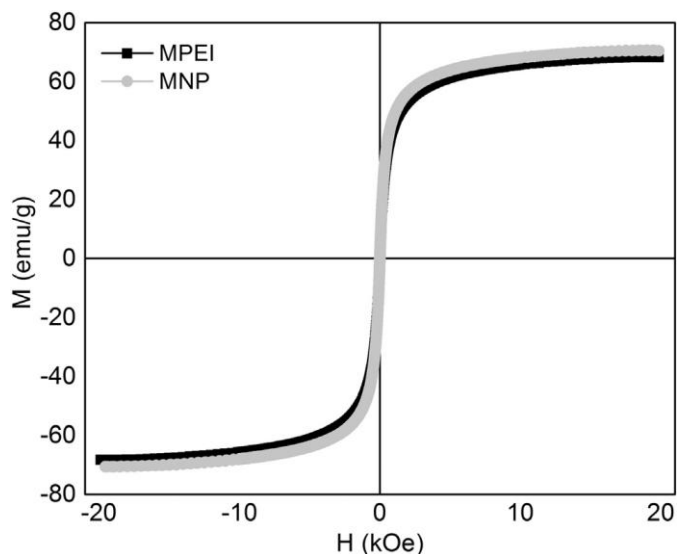


Figura 8. Curbele de magnetizare ale NPM și MPEI

Studiul capacității de captare a radicalilor liberi *in vitro*

Pentru evaluarea activității antioxidante a nanosistemelor sintetizate, s-a utilizat un radical metastabil 2,2-difenil-1-picrililhidrazil (DPPH•).

Ambele tipuri de nanoparticule încărcate cu APC (MPEI-APC și MPEI- SBE β CD-APC) prezintă proprietăți antioxidante în diverse proporții (Figura 9). Capacitatea antioxidantă a MPEI-APC este mai mare decât cea a MPEI-SBE β CD/APC datorită concentrației mai mari de APC înglobată în structurile MPEI-APC.

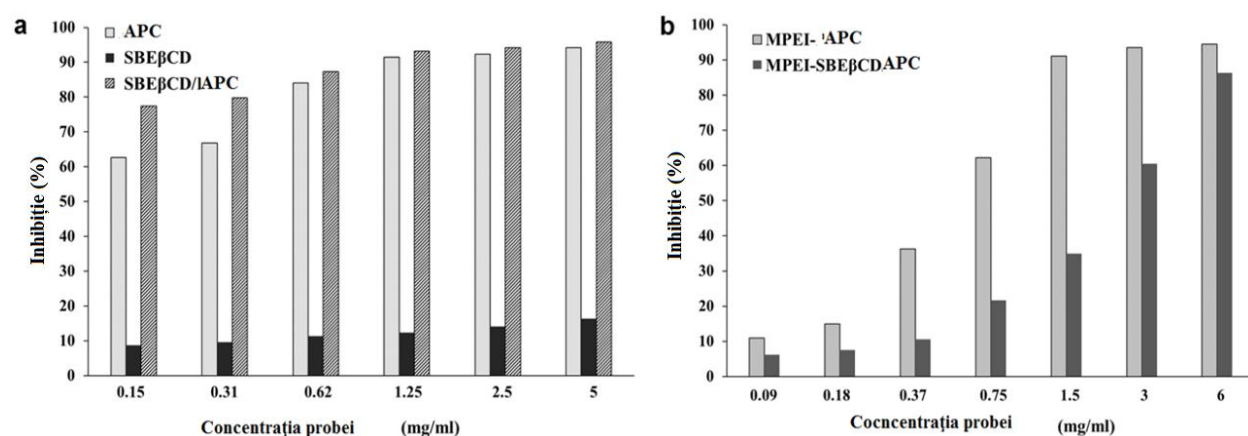


Figura 9. Activitatea antioxidantă a APC în diferite formulări prin metoda DPPH

Teste de citotoxicitate.

Citotoxicitatea conjugatelor a fost testată utilizând metoda MTS, bazată pe cuantificarea spectrofotometrică a cantității de formazan produsă de celulele viabile rămase după contactul cu nanoparticulele magnetice. Nu s-au observat diferențe semnificative în viabilitatea celulară după 48 h de incubare în prezența conjugatelor MPEI, MPEI-APC și MPEI-SBE β CD/APC în comparație cu proba control.

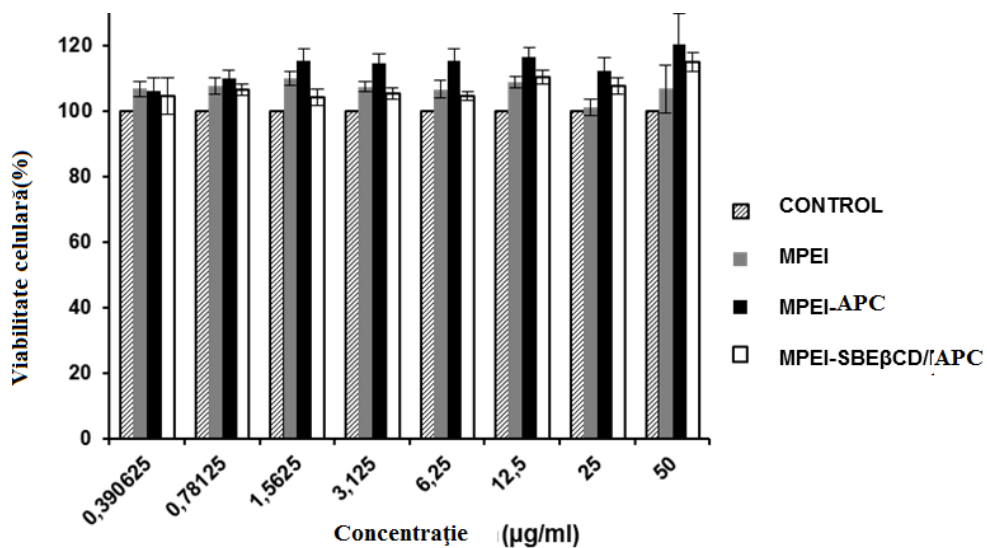


Figura 10. Teste de citotoxicitate prin metoda MTS

Studii de eliberare a APC si SBEβCD/APC.

Profilul de eliberare al antioxidanților din MPEI s-a efectuat prin metoda dializei. Profilele de eliberare ale MPEI încărcate cu APC liber sau cu complex de incluziune indică o creștere continuă a ratei de eliberare a APC din ambele formulări (MPEI-APC și MPEI-SBEβCD/APC) pe parcursul a trei zile.

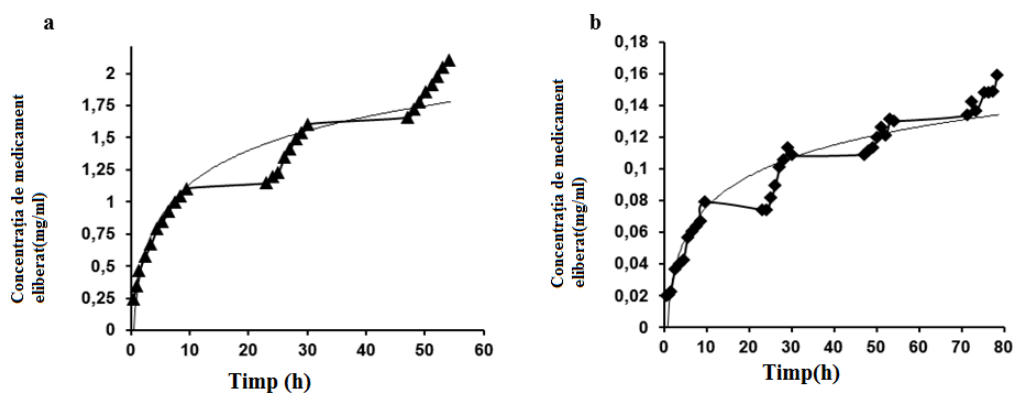


Figura 11. Curbele de eliberare controlată pentru (a)MPEI-APC și (b) MPEI-SBEβCD-APC.

Subcapitolul II.2. Nanoparticule magnetice acoperite cu dextran biosintetizat și încărcate cu acid protocatehuic

Studiul descris în acest capitol își propune să atingă două obiective principale:

1. Obținerea și caracterizarea fizico-chimică și biologică a nanoparticulelor magnetice acoperite cu dextran biosintetizat (MDex), urmată de încărcarea acestora cu acid protocatehuic, rezultând nanosisteme de tip miez-coajă (MDex-APC) cu proprietăți antioxidante, similare sistemelor MPEI-APC (Subcapitolul II.1.).

2. Obținerea și caracterizarea fizico-chimică și biologică a nanoparticulelor magnetice acoperite cu dextran biosintetizat prin două procedee și încărcarea acestora cu un agent antifungic suplimentar (propiconazolul (PP)), rezultând sistemele notate cu MDex-PP, având ca rezultat potențarea efectului antifungic al Dex.

Sinteza și caracterizarea fizico-chimică și biologică ale nanoparticulelor magnetice acoperite cu dextran și încărcate cu acid protocatehuic cu proprietăți antioxidante

Prepararea nanoparticulelor magnetice acoperite cu dextran biosintetizat (MDex) s-a efectuat prin dispersarea NPM-ilor în soluția apoasă conținând 1% Dex sub agitare mecanică viguroasă (700 rpm) și fără influența unui câmp magnetic exterior. Soluția coloidală rezultată a fost menținută sub agitare mecanică viguroasă la 80 – 90 °C, timp de 30 de minute. Nanoparticulele magnetice MDex pot fi separate sub acțiunea unui magnet poziționat exterior vasului de reacție.

MDex-APC s-au obținut prin același procedeu ca cel pentru MPEI-APC, având ca particularitate că soluția coloidală MDex a fost dispersată în soluția apoasă de APC.

Caracterizarea prin EDX

Spectrele EDX ale MDex și MDex-APC evidențiază prezența fierului, carbonului și oxigenului în structura materialului, în rapoarte diferite în funcție de structura materialului supus analizei

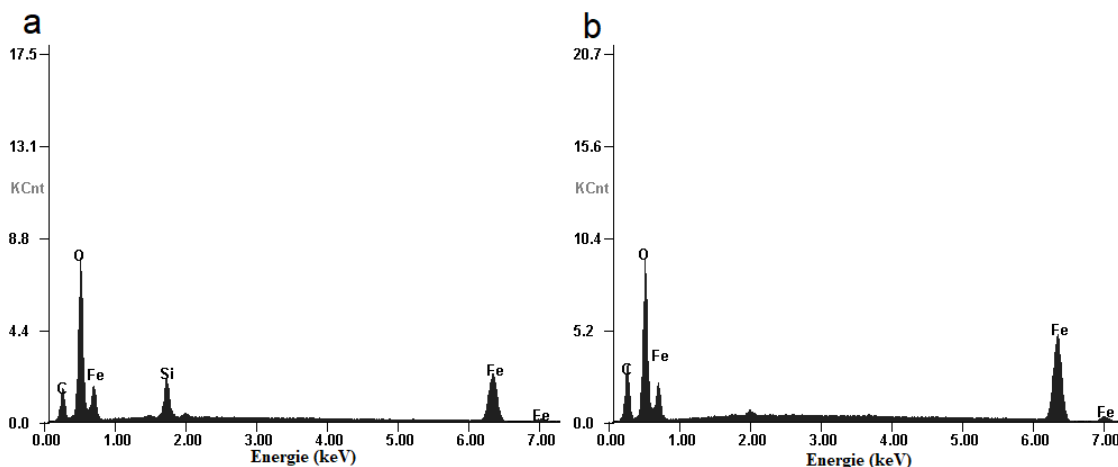


Figura 12. Spectrele EDX ale nanoparticulelor MDex (a) și MDex-APC (b).

Măsurarea proprietăților magnetice

Măsurătorile magnetice efectuate pe probele MDex arată că acestea prezintă o magnetizație de saturație de 35 emu/g, iar câmpul coercitiv și magnetizația remanentă sunt de 9,5 Oe și, respectiv, 1,05 emu/g (Figura 13). Valorile scăzute ale câmpului coercitiv și a magnetizației remanente pot clasa aceste nanoparticule în clasa materialelor superparamagnetice, confirmând dimensiunile de sub 20 nm ale nanoparticulelor obținute prin TEM.

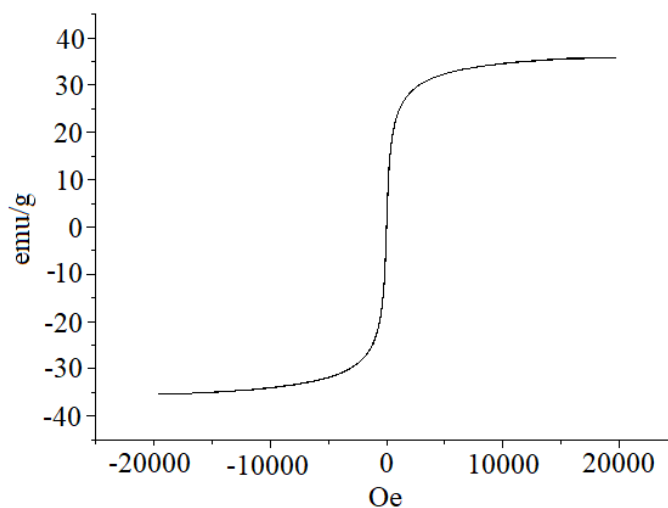


Figura 13. Curba de magnetizație a nanoparticulelor Mdex

Caracterizarea activității antioxidante prin metoda DPPH

Pentru a utiliza nanoparticulele magnetice MDex-APC ca suspensii injectabile *in vivo* este necesară realizarea unor teste biologice suplimentare. În cazul nostru, valoarea IC₅₀, net superioară pentru MDex-APC (720 μg/ml) în comparație cu APC (2.4 μg/ml) nu se datorează scăderii activității APC înglobat în stratul de Dex, ci mai curând aportului gravimetric adus de miezul magnetic.

Caracterizarea prin studii de evaluare a biocompatibilității

Pentru evaluarea biocompatibilității nanoparticulelor magnetice funcționalizate s-a utilizat testul MTS. Nanoparticulele s-au dovedit biocompatibile la toate concentrațiile, reducând viabilitatea celulară cu mai puțin de 10% (Figura 14). Odată cu creșterea concentrațiilor nu se observă o scădere semnificativă a viabilității celulare, ceea ce arată că nanoparticulele sunt biocompatibile și pot fi utilizate în aplicațiile biomedicale.

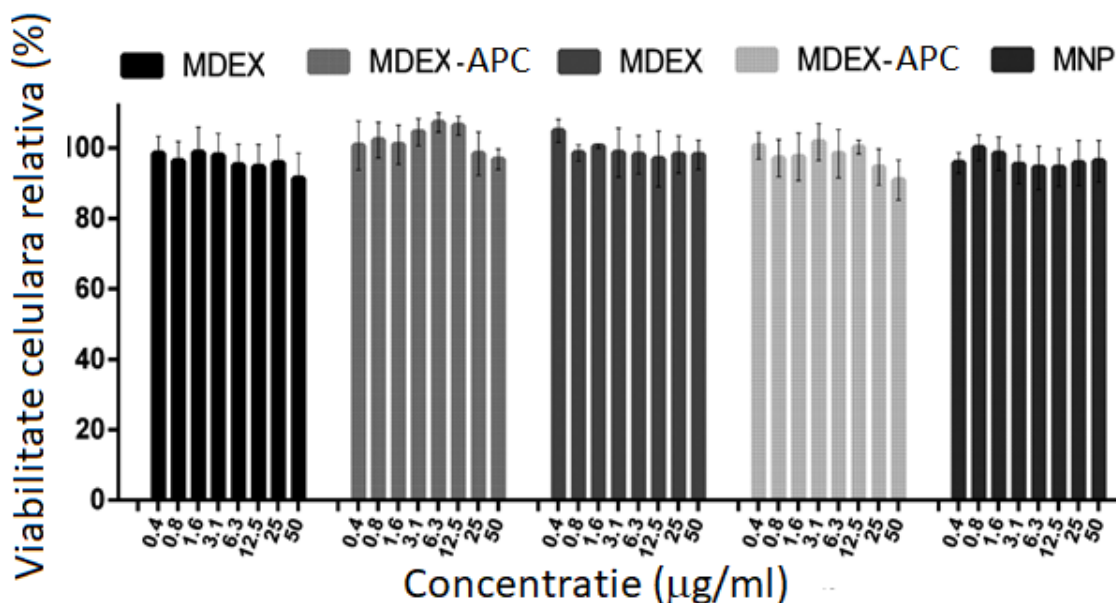


Figura 14. Reprezentarea grafică a viabilității celulare NHDF tratate cu MDex și MDex-APC.

Caracterizarea prin studii de eliberare controlată *in vitro*

Testele de eliberare a APC încărcat învelișul polimeric al nanoparticulelor MDex au fost realizate în PBS la pH 7.4 și la temperatura de 37 °C. Din studiul profilului curbei de

eliberare a APC din nanoparticulele magnetice MDex-APC se observa APC este eliberat în soluția de supernatant până la atingerea unui echilibru adsorbție-desorbție, conducând la o scădere drastică a vitezei de eliberare. Eliberarea începe să aibă loc în continuare atunci când un volum din supernatant este înlocuit cu unul proaspăt, având loc pînă se instalează din echilibrul adsorbție-desorbție.

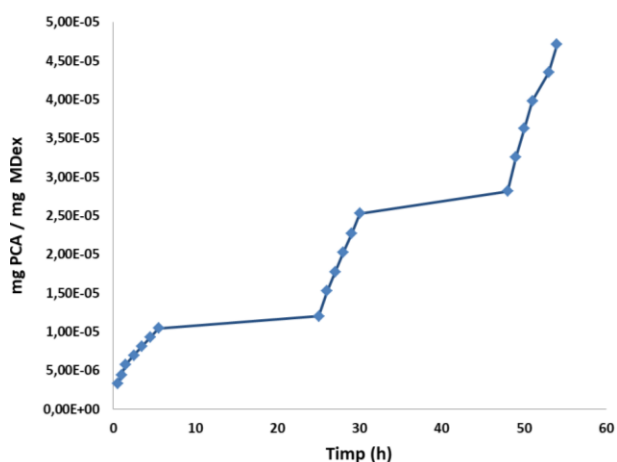


Figura 15. Curba de eliberare a APC din nanoparticulele MDex din PBS la (pH 7.4) la 37°C.

Nanoparticule magnetice pe bază de magnetită acoperite cu dextran și încărcate cu propiconazol, cu proprietăți antifungice

Se urmărește potențarea efectului antifungic al Dex din sistemele MDex prin înglobarea în stratul polimeric Dex a propiconazolului ca agent antifungic recunoscut.

Pentru studiul proprietăților antifungice au fost sintetizate două tipuri de nanoparticule magnetice acoperite cu dextran sintetizate prin metoda discutată anterior, folosind drept precursori două soluții de Dex având concentrații diferite, de 1% și 2%.

Testarea susceptibilității antifungice utilizând tulpina de *C. albicans* a indicat faptul că MDex2% poate distruge până la 77% din biofilmul format de levură la o concentrație minimă inhibitorie de 10 mg/ml (Figura 16), concentrațiile sub acest prag ne reprezentând activitate antifungică. Pe de altă parte compusul denumit MDex1% nu a prezentat nicio activitate relevantă împotriva tulpinii de *C. albicans*.

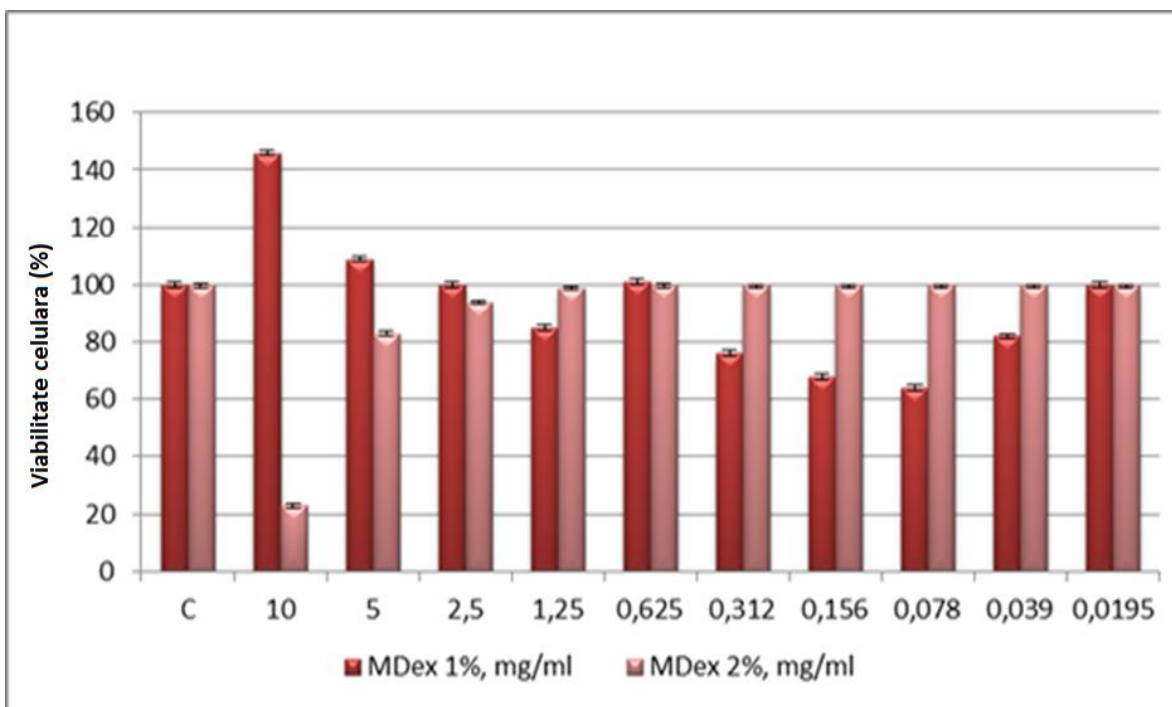


Figura 16. Reprezentarea grafică a susceptibilității antifungice împotriva *C. albicans* pentru MDex1% și MDex2% exprimată ca variația viabilității celulare în funcție de concentrațiile nanoparticulelor.

În scopul evidențierii unui efect antifungic aditiv, care să potențeze activitatea nanoparticulelor MDex2%, acestea au fost încărcate cu propiconazol (PP), un agent antifungic, cunoscut pentru activitatea sa împotriva tulpinilor de *C. albicans*.

Testarea susceptibilității antifungice utilizând tulpini de *C. albicans* a indicat faptul că MDex2%-PP poate distruge până la 100% biofilmul format la o concentrație de 1,25 mg/ml.

Încărcarea cu PP a nanoparticulelor MDex2% a condus la îmbunătățirea activității antifungice, atât în fază de biofilm, cât și planctonică.

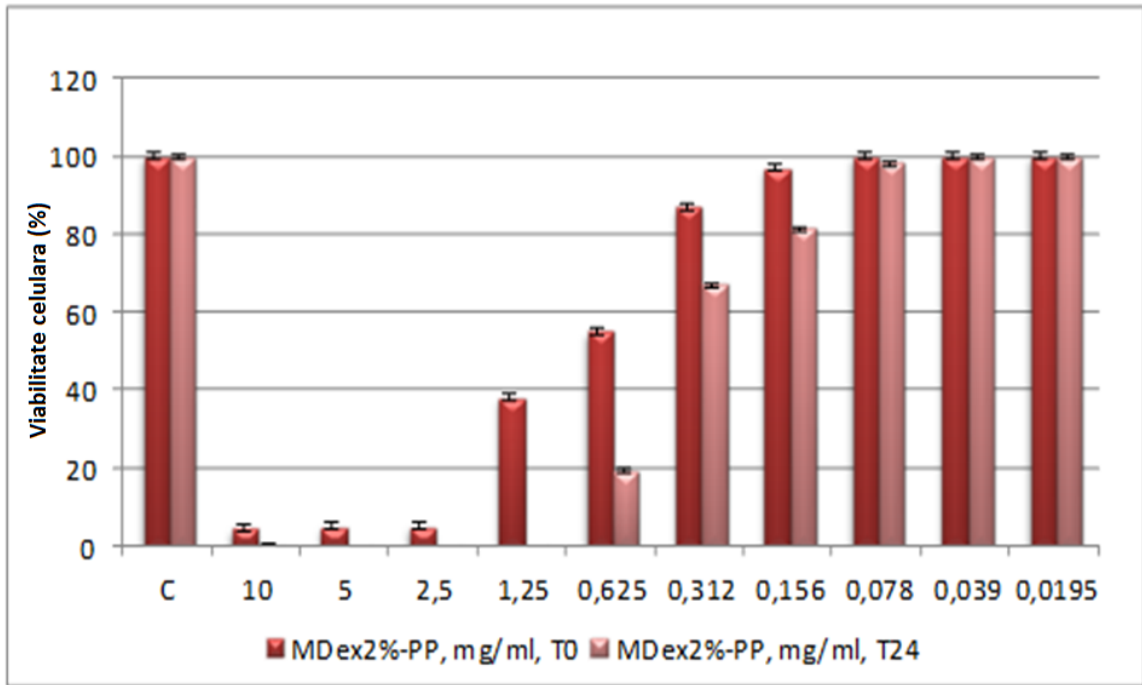


Figura 17. Reprezentarea grafică a susceptibilității antifungice *C. albicans* pentru MDex2%-PP in faza planctonica (T0) si biofilm (T24).

Subcapitolul II.3. Nanoparticule magnetice conjugate cu nanoparticule de oxid de ceriu cu proprietăți decaptare a radicalilor liberi

Scopul studiului din acest capitol este conceperea unui sistem nanostructurat, capabil să livreze specii chimice antioxidante într-o manieră controlată farmacologic și ghidată spațial. Obiectivul global a fost acela de a sintetiza și caracteriza pentru prima dată nanoparticule magnetice decu structură de tip miez-manta, sub forma NPM acoperite cu PEI și conjugate cu CeNP, rezultând sisteme cu proprietăți antioxidante și magnetice. Implicarea NPM în proiectarea acestor sisteme nanostructurate are menirea să ofere un plus de funcționalitate, făcându-le capabile să fie ghidate în câmp magnetic și să fie vizualizate prin metode de imagistica, de tipul rezonanței magnetice nucleare medicale, determinând o abordare teranostică. Pentru realizarea acestui deziderat este necesară atingerea câtorva obiective principale, după cum urmează:

1. Obținerea CeNP acoperite cu PEI reticulată cu aldehydă glutarică (CePEI-GA-PEI).
2. Obținerea NPM acoperite cu polietilenimină PEI reticulată cu aldehydă glutarică (MPEI-GA).
3. Conjugarea sistemelor CePEI-GA-PEI și MPEI-GA, rezultând sistemul nanostructurat MCEPEI-GA-PEI.
4. Evidențierea proprietăților magnetice și antioxidante ale sistemelor sintetizate.

În prima etapă, s-au obținut CeNP acoperite cu PEI (CePEI) prin precipitarea sării hidratate $Ce(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ în mediu bazic, asigurat de NH_4OH , și în prezență de PEI, având un dublu rol, acela de surfactant cât și de agent de funcționalizare. În cea de-a doua etapă, s-a avut în vedere stabilizarea nanoparticulelor prin reticularea PEI cu aldehydă glutarică.

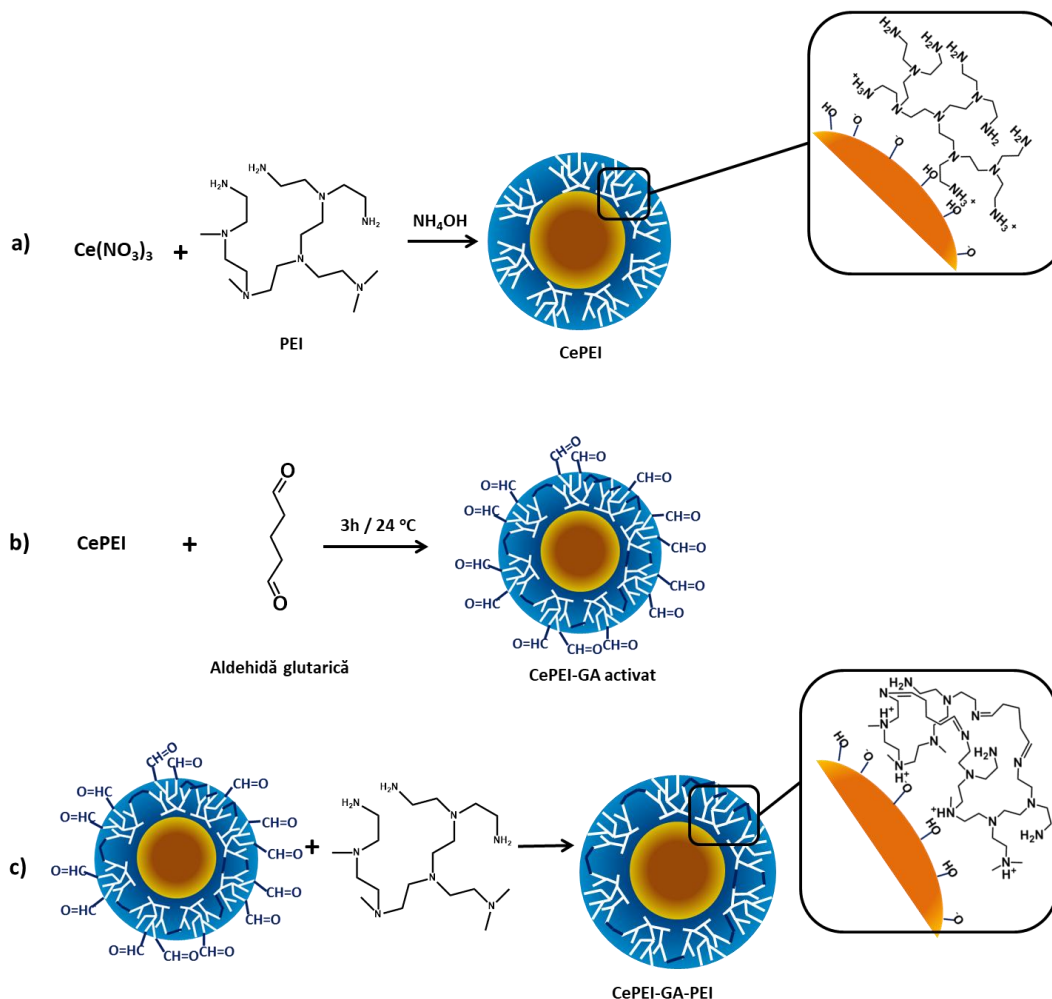


Figura 18. Reprezentarea schematizată a etapelor de sinteză ale CePEI-GA-PEI.

. În continuare, nanoparticulele MPEI au fost reticulate cu aldehidă glutarică în exces pentru ca la suprafața nanoparticulelor să existe numai grupări aldehydice. Obținerea nanosistemelor MCEPEI-GA-PEI s-a realizat prin amestecarea celor două soluții coloidale de MPEI-GA, respectiv CePEI-GA-PEI sub agitare mecanică timp de 10 min. Soluția rezultată a fost supusă ultrasunetelor timp de 5 min pentru a se asigura procesul de interconectare între cele două tipuri de nanoparticule, prin condensarea grupelor funcționale aldehydice de la suprafața MPEI-GA cu grupele aminice de la suprafața CePEI-GA-PEI.

Caracterizarea prin studii EDX

Analiza EDX a fost utilizată pentru a identifica compoziția elementală a nanoparticulelor conjugate. În spectrul EDX se pot observa semnalele ce corespund fierului, ceriului, azotului, oxigenului și carbonului, elemente ce compun sistemul MCEPEI-GA-PEI (Figura 19)

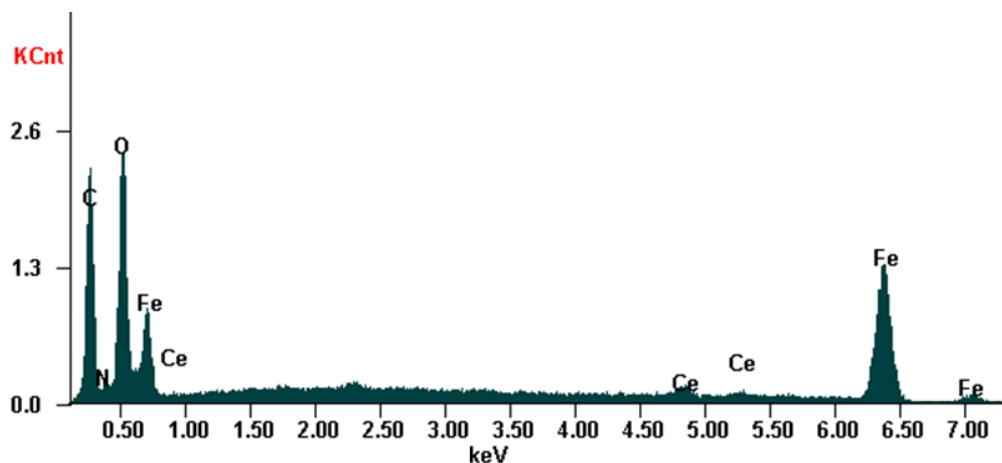


Figura 19. . Spectrul EDX al nanoparticulelor MCEPEI-GA-PEI.

Caracterizarea prin studii TEM

După cum era de așteptat, nanoparticulele MCEPEI-GA (Figura 20), fiind obținute prin cuplarea nanoparticulelor magnetice (MPEI-GA) și a celor pe bază de oxid de ceriu (CePEI-GA-PEI), prezintă o creștere ușoară a diametrului mediu (8 nm).

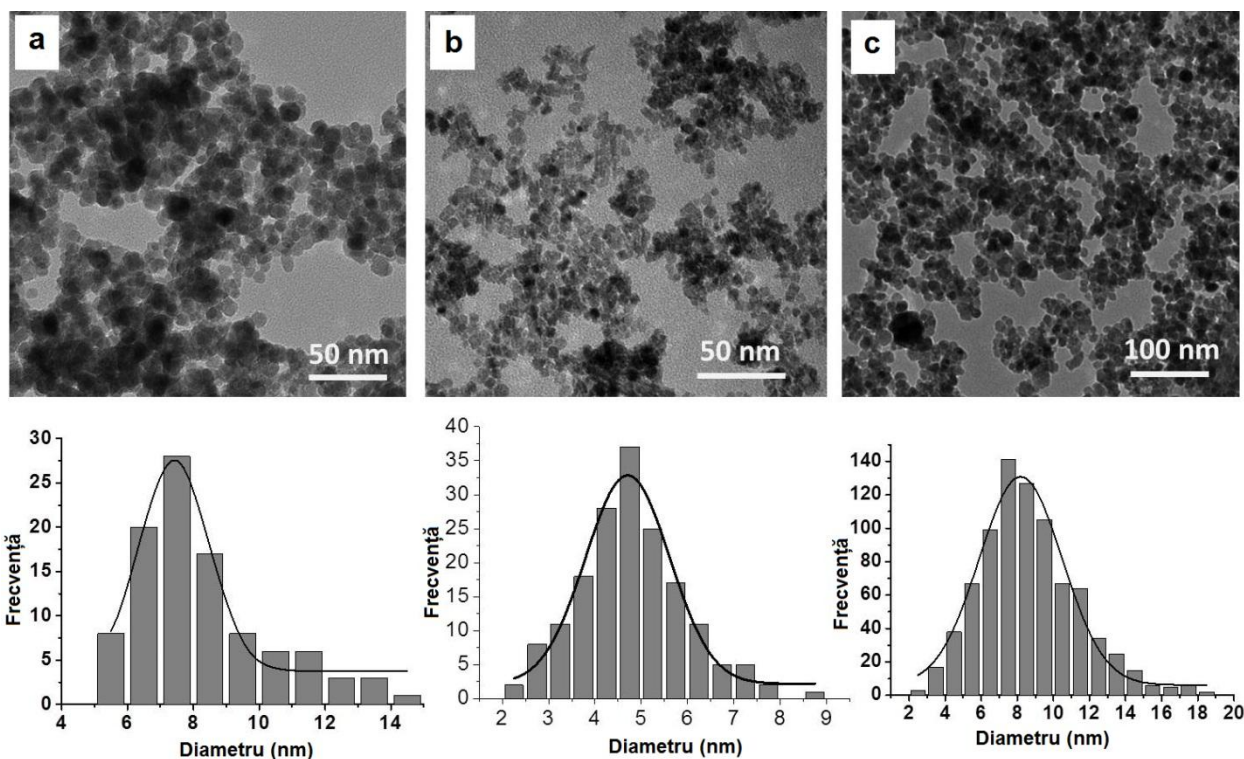


Figura 20. Imaginile TEM ale nanoparticulelor MPEI (a); CePEI (b); MCEPEI-GA-PEI

Evidențierea proprietăților magnetice a nanoparticulelor

Valorile magnetizației de saturație pentru nanoparticulele descresc de la 70.63 emu/g pentru NPM la 68,34 emu/g pentru MPEI nereticulat și 7.55 emu/g pentru conjugatul MCEPEI-GA-PEI. Scăderea magnetizației corespunzătoare nanoparticulelor MCEPEI-GA-PEI se datorează prezenței stratului diamagnetic de PEI sau PEI reticulat cu aldehidă glutarică provenit atât de la nanoparticulele magnetice cât și din cele pe bază de oxid de ceriu, iar scăderea este cu atât mai mare cu cât stratul diamagnetic este mai gros.

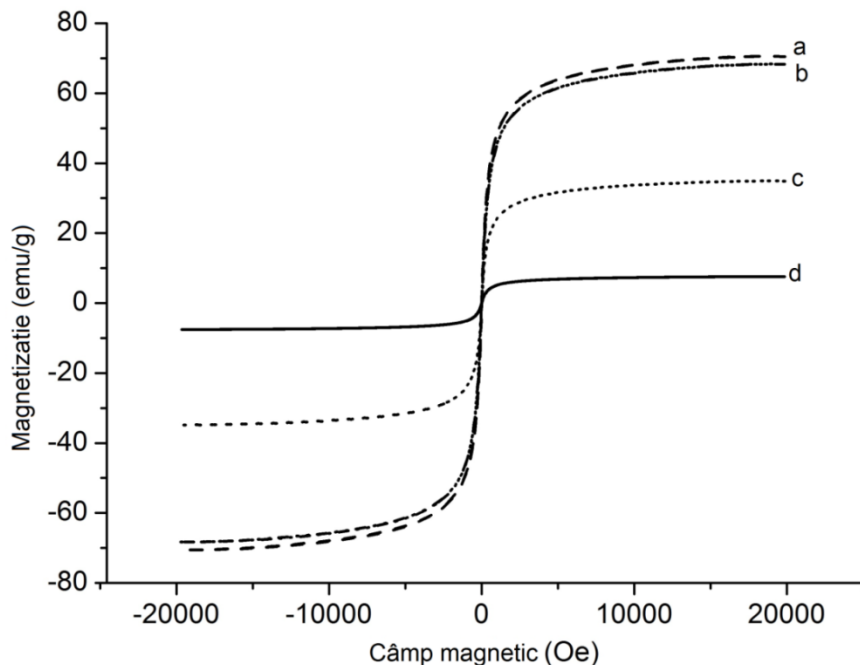


Figura 21. Curbele de magnetizație ale nanoparticulelor NPM (a); MPEI (b); amestec fizic NPM, CeNP și PEI (c); MCEPEI-GA-PEI (d).

Evidențierea activității antioxidante prin metoda DPPH

Figura 22 prezintă activitatea antioxidantă prin metoda DPPH a nanoparticulelor CePEI, CePEI-GA-PEI, MCEPEI-GA-PEI, a NPM și a amestecului fizic MPEI și CePEI-GA-PEI în raport masic = 1:1(g/g). În mod surprinzător, inhibiția procentuală este mai mare în cazul MCEPEI-GA-PEI decât în cazul nanoparticulele de CePEI-GA-PEI, în ciuda faptului că MCEPEI-GA-PEI are un conținut mai scăzut în ceriu. Rezultatul poate fi corelat cu prezența structurii polimerice de acoperire, în special cu prezența grupărilor iminice nesaturate (-C=N-) rezultate în urma reacției dintre grupările aminice ale PEI cu grupările aldehydice din aldehida glutarică.

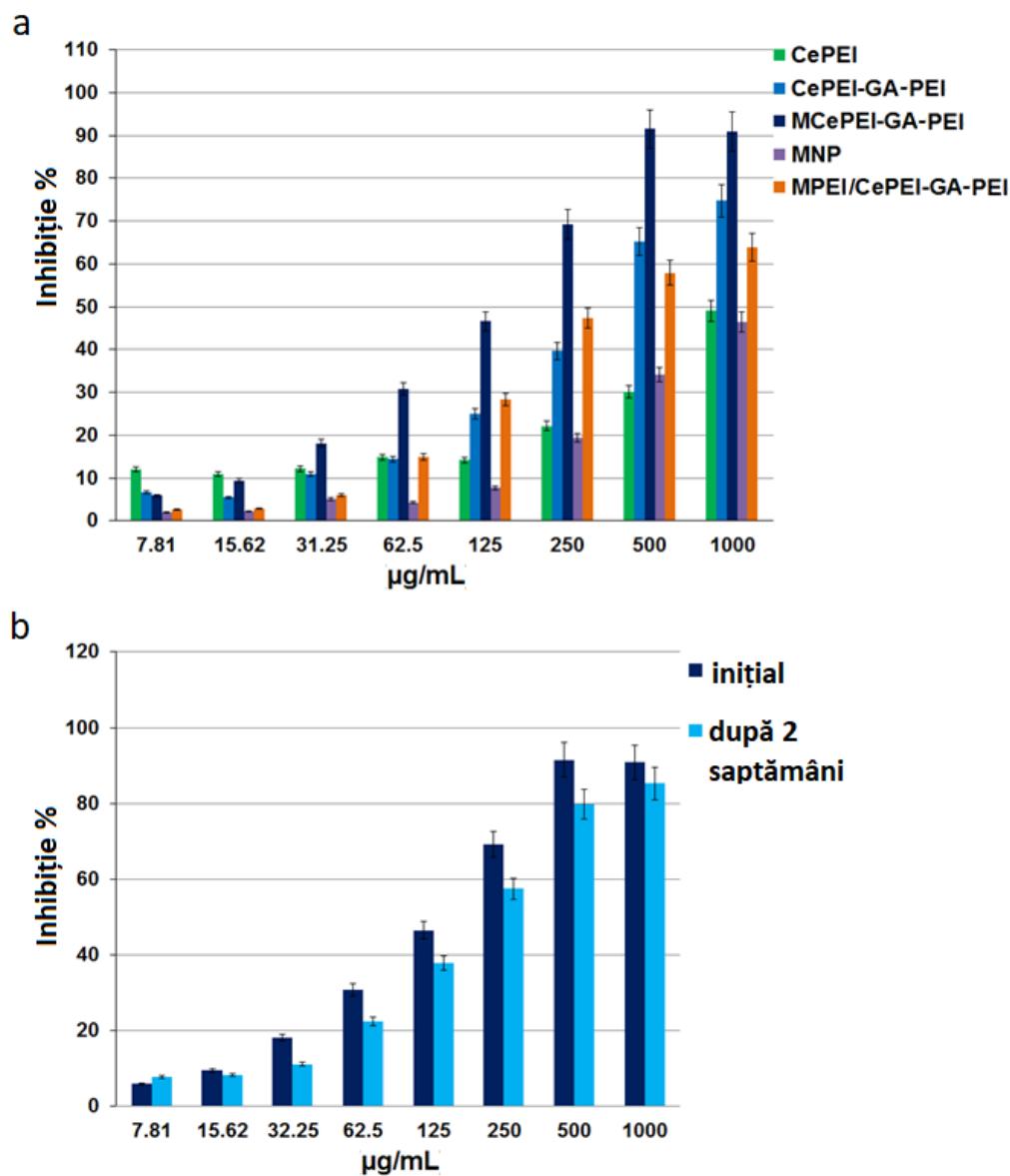


Figura 21. Activitatea antioxidantă măsurată prin metoda DPPH a nanoparticulelor CePEI, CePEI-GA-PEI, MCEPEI-GA-PEI, MNP și a amestecului fizic MPEI/CePEI-GA-PEI = 1:1(g/g) (a) și variația activității antioxidante a nanoparticulelor MCEPEI-GA-PEI în timp (b).

Studierea biocompatibilității prin metoda MTS

Pentru nanoparticulele MNP și MPEI se poate observa că după 48 h de incubare, viabilitatea celulară nu se schimbă semnificativ, având valori în jur de 100% (Figura 23). Nanoparticulele CePEI prezintă o bună viabilitate celulară, de peste 90%, pentru o concentrație de 100 µg/ml. Este remarcabil faptul că nanoconjugatul MCEPEI-GA-PEI (Figura 23) prezintă o

viabilitate celulară foarte bună în comparație cu proba de control, chiar și la concentrații mari, probabil datorită faptului că citotoxicitatea a fost studiată în ceea ce privește cantitatea totală de nanoconjugat, când fracția Ce^{3+} este minimă în compoziție

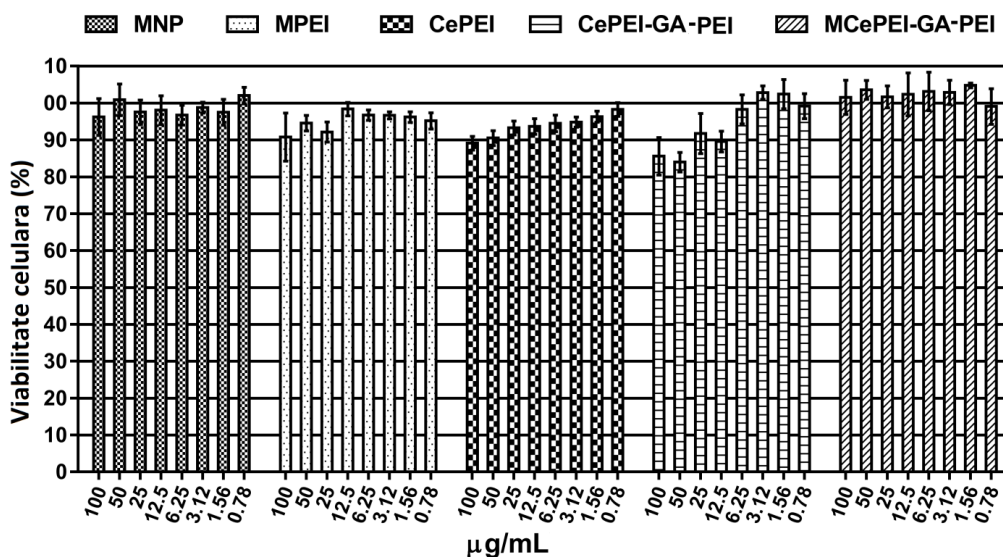


Figura 23. Test de citotoxicitate *in vitro* folosind metoda MTS pentru nanoparticule MNP, MPEI, CePEI, CePEI-GA-PEI și MCEPEI-GA-PEI față de celulele NHDF.

Studierea activității antioxidante *in vivo*

Pentru studiul proprietăților antioxidante *in vivo* s-au folosit 3 loturi cu câte 5 șoareci/lot. S-a injectat 1 ml soluție de nanoparticule intraperitoneal, astfel Lotul 1 a fost injectat numai cu soluție salină, Lotul 2 a fost injectat cu soluții cu CePEI-GA-PEI, iar Lotul 3 a fost injectat cu soluții cu MCEPEI-GA-PEI. Se remarcă faptul că probele provenite de la șoarecii care au fost injectați numai cu apă salină, activitatea antioxidantă respectă seria plasmă > ficat > creier >> splina (fiind aproape de zero).

Capitolul III. Concluzii generale

Această teză și-a propus dezvoltarea unor contribuții originale în domeniul sintezei unor sisteme nanostructurate pe bază de magnetită cu proprietăți antioxidante și evaluarea acestora ca sisteme adjuvante în tratamentul restenozei în cadrul bolii coronariene. Cercetările au condus la schematizarea unor concluzii generale:

1. Ateroscleroza este o boală în care are loc oxidarea lipidelor de către speciile reactive de oxigen, fapt ce conduce la acumularea lor în intima arterelor și la formarea plăcilor de aterom. Pe lângă modalitățile clasice de tratament, s-a impus în ultimii ani ca direcție posibilă de cercetare utilizarea nanotehnologiilor pentru diagnostic și/sau livrare de principii active către anumite organe. Între aceste nanotehnologii se remarcă nanoparticulele magnetice, care se pot sintetiza prin metode top-down sau bottom-up.
2. În cadrul tezei de doctorat s-au sintetizat trei tipuri de particule magnetice funcționalizate: nanoparticule magnetice acoperite cu PEI și încărcate cu APC, nanoparticule magnetice acoperite cu dextran și încărcate, de asemenea, cu APC și nanoparticule magnetice conjugate cu nanoparticule de oxid de ceriu.
3. Nanoparticulele magnetice funcționalizate pe bază de PEI și APC s-au preparat în trei etape. Într-o primă etapă au fost sintetizate prin coprecipitare nanoparticulele de magnetită. Ulterior, acestea au fost acoperite cu PEI, reacția bazându-se pe legăturile electrostatice formate între stratul polimeric și suprafața nanoparticulelor. În a treia etapă a avut loc reacția de funcționalizare cu APC, reacție de asemenea bazată pe interacțiuni electrostatice.
4. Tehnica DRX a confirmat faptul că materialele magnetice sunt reprezentate de cristale de magnetită iar tehnica TEM a evidențiat un diametru mediu de 13 nm, dimensiune la care are loc apariția comportamentului superparamagnetic, evidențiat prin curbele de magnetizare
5. Nanoparticulele magnetice funcționalizate prezintă bune proprietăți antioxidante, biocompatibilitate precum și capacitatea de a elibera compusul terapeutic într-o manieră adecvată. Acestea le recomandă pentru utilizarea ca tratamente adjuvante în prevenirea restenozei după intervenția percutanată coronariană.

6. Nanoparticulele pe bază de magnetită și dextran biosintetizat s-au preparat în trei etape, asemănător protocolului utilizat în cazul nanoparticulelor pe bază de PEI și APC. Tehnicile FT-IR, DLS și EDX au confirmat acoperirea și funcționalizarea cu succes a miezului magnetic

7. Nanoparticulele acoperite MDex1% și MDex2% au fost testate în ceea ce privește activitatea antifungică împotriva tulpinilor de *C. albicans*. S-a observat că MDex 2% distruge până la 77% din biofilm la o concentrație minimă inhibitorie de 10 mg/ml, în timp ce MDex 1% nu prezintă activitate relevantă.

8. Sinteza nanoparticulelor hibride pe bază de magnetită și oxid de ceriu a fost realizată în două etape. În prima fază, s-au sintetizat nanoparticule de oxid de ceriu, care au fost acoperite cu PEI reticulat cu GA. În cea de-a doua etapă s-a realizat cuplarea nanoparticulelor magnetice prin reacția grupărilor aldehydice de la suprafața acestora cu cele aminice de pe suprafața nanoparticulelor de oxid de ceriu.

9. Sistemul MCEPEI-GA-PEI are o dimensiune medie de 8 nm, adecvată pentru aplicații biomedicale in vivo și comportament superparamagnetic. De asemenea, acest sistem se remarcă printr-o bună activitate antioxidantă.

10. Nanoparticulele hibride au fost testate din punct de vedere al activității antioxidante in vivo, unde s-au remarcat creșteri mari ale acestora în splină și creier, sistemul MCEPEI-GA-PEI conducând la apariția unor procese degenerative toxice severe în ficat și congestie în spină și sistemul nervos

Rezultatele obținute în timpul elaborării acestei teze s-au concretizat în următoarele publicații și comunicări științifice:

Articole publicate în reviste cotate ISI:

1. I.-A. Turin-Moleavin, A. Fifere, **A.L. Lungoci**, I. Rosca, A. Coroaba, D. Peptanariu, V. Nastasa, S.-A. Pasca, A.-C. Bostanaru, M. Mares, M. Pinteala, *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of the new magnetic-cerium oxide nanoconjugates, *Nanomaterials*, **2019**, 9,1565 (IF=4.034)

2. **A.L. Lungoci**, I.A. Turin-Moleavin, A. Corciova, C. Mircea, A. Arvinte, A. Fifere, N. L. Marangoci, M. Pinteala Multifunctional magnetic cargo-complexes with radical scavenging properties, *Mater. Sci. Eng. C*, **2018**, 94, 608-618 (IF=5.08)
3. **A.L. Lungoci**, M. Pinteala, A.R. Petrovici, I. Rosca, I.A. Turin-Moleavin, A. Fifere, Biosynthesized dextran coated magnetic particles with antifungal activity, *Rev. Roum. Chim.*, **2018**, 63 (5-6), 497-503 (IF=0.14)

Alte articole publicate în reviste cotate ISI (rezultate care nu sunt incluse în teză):

1. A. Corciova, B. Ivanescu, C. Tuchilus, A. Fifere, F. Doroftei, **A.L. Lungoci**, N. L. Marangoci, C. Mircea, Biosynthesis of silver nanoparticles (AgNPs) using *Tilia cordata* flowers extracts and evaluation of some biological activities, *Environ Eng Manag J*, **2018**, 17(12), 2957-2969(IF=1.186)
2. A. Corciova, C. Mircea, A.F. Burlec, O. Cioanca, C. Tuchilus, A. Fifere, **A.L. Lungoci**, N. Marangoci, M. Hancianu, Antioxidant, antimicrobial and photocatalytic activities of silver nanoparticles obtained by bee propolis extract assisted biosynthesis, *Farmacia*, **2019**, 67, 482-489 (IF=1.081)
3. A. Corciova, C. Mircea, C. Tuchilus, O. Cioanca, A. F. Burlec, B. Ivănescu, L. Vlase, A. M. Gheldiu, A. Fifere, **A.L. Lungoci**, M. Hancianu, Phenolic and sterolic profile of a *Phyllanthus amarus* extract and characterization of biosynthesized silver nanoparticles; *Farmacia*, **2018**, 66(5), 831-838, (IF=1.081)
4. A. Corciova, A. F. Burlec, A.-M. Gheldiu, A. Fifere, **A.L. Lungoci**, N. Marangoci, C. Mircea, Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Licorice Extract and Evaluation of their Antioxidant Activity, *Rev. Chim.-Bucharest*, **2018** (IF=0.41)

Capitole de cărți:

1. M. Silion, A. Fifere, **A. L. Lungoci**, N. L. Marangoci, S. A. Ibanescu, R. Zonda, A. Rotaru, M. Pinteala, Mass spectrometry as a complementary approach for noncovalently bound

complexes based on cyclodextrins; *Advancements of Mass Spectrometry in Biomedical Research*, 2nd ed., A. G. Woods, C. D. Darie, Eds., Springer, **2019**, 685-701

2. A. Fifere, **A.L. Lungoci**, B. Minea, I. Rosca, Gh. Duca, V. Boldescu, N. Marangoci, B.C. Simionescu, M. Pinteala, F. Macaev, Cyclodextrins as molecular delivery systems for drugs with antifungal activity : from design to application; Duca Ghe și Macaev F, *Compounds and Materials for Drug Development and Biomedical Applications*, Editura Academiei Romane, Muzeul Brăilei « Carol I » Editura Istros, București-Brăila, **2018**, 291-307.

Lucrări comunicate la Congrese Naționale și Internaționale:

1. **A.L. Lungoci**, A. Fifere, N. L. Marangoci, A. Corciova, B. Ivanescu, C. Tuchilus, C. Mircea Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts; 4th International Conference on Chemical Engineering, ICCE, Romania, 31.10-02.11.2018.

2. A. Corciova, A. F. Burlec, A. Fifere, **A.L. Lungoci**, N. Marangoci, I. Turin-Moleavin, O. Cioanca, C. Mircea, C. Tuchilus Biosinteza și caracterizarea unor nanoparticule de argint preparate prin utilizarea unui extract de *Quercus robur*, Congresul Național de Farmacie, ediția a XVII-a., București, România, 25-29.09.2018

3. A. Fifere, **A.L. Lungoci**, I. A. Turin-Moleavin; A. R. Petrovici, Antioxidant loaded dextran coated magnetic nanoparticles for biomedical application, International Symposium of Chemical Engineering and Materials, SICHEM, Bucuresti, România, 06-07.09.2018.

4. **A.L. Lungoci**, M. Pinteala, A.R. Petrovici, I. Rosca, I.A. Turin-Moleavin, **A. Fifere**, Azoles-Loaded magnetic nanoparticles with antifungal effects, Balkan Fungus, First Balkan Conference of Medical Mycology and Mycotoxicology, 13-15.08 2018

5. **A.L. Lungoci**, I.-A. Turin-Moleavin, A. Corciova, C. Mircea, A. Arvinte, **A. Fifere**, N. L. Marangoci, M. Pinteala, Antioxidant loaded magnetic nanoparticles for biomedical applications, Conferința Școlii Doctorale, Universitatea Tehnică Gheorghe Asachi, Iași, România, 23-24.05.2018

6. **A.L. Lungoci**, M. Pinteală, A. R. Petrovici, I. Roșca, I. A. Turin-Moleavin, A. Fifere, Biosynthesized dextran coated magnetic nanoparticles with antifungal activity, 4th French-Romanian Colloquium on Medicinal Chemistry, 05-07.09 2017 Iași, România
7. **A.L. Lungoci**, N. Marangoci, A. Corciova, C. Mircea, I. Roșca, A. Fifere, M. Pinteală, Magnetic nanoparticles loaded with natural antioxidants for biomedical applications, 6th International Conference Ecological & Environmental Chemistry, Chișinău, Republica Moldova, 02-03.03.2017
8. **A.L. Lungoci**, N. Marangoci, C. Mircea, A. Corciova, A. Fifere, M. Pinteala, Protocatechuic acid encapsulation with modified cyclodextrins and surface deposition onto magnetite nanoparticles, XII th French-Romanian Symposium on Polymers, 5-7.08. 2016, Sophia- Antipolis, Franța
9. **A.L. Lungoci**, A. Fifere, A. Rotaru, M. Pinteala, New Method For The Preparation Of Cyclodextrin-Coated Magnetic Nanoparticles, 12th International Conference on Colloid and Surface Chemistry, ICCSC'2016, 16-18.05 2016, Iași, România

Membru în echipe de cercetare:

1. Horizon 2020 WIDESPREAD 2-2014: ERA Chairs, “Laboratory of Supramolecular Chemistry for Adaptive Delivery Systems” – SUPRACHEM Lab, perioada 01.02.2016-prezent.
2. INTERA, 13PCCDI/04.04.2018, Terapii inteligente pentru boli non-comunicabile bazate pe eliberarea controlata de compusi farmacologici din celule incapsulate dupa manipulare genetica sau bionanoparticule vectorizate, perioada 2018-2019.

Mobilități pe perioada tezei de doctorat:

1. În Franța, la Universitatea din Reims Champagne Ardenne, Institutul de Chimie Moleculaire din Reims, în cadrul Proiectului Erasmus + ”Joint innovative training and

teaching/learning program in enhancing development and transfer knowledge of application of ionizing radiation in materials processing”.

2. La Universitatea de Tehnologie din Kaunas, Lituania, în cadrul Proiectului Erasmus + ”Joint innovative training and teaching/learning program in enhancing development and transfer knowledge of application of ionizing radiation in materials processing”.

Bibliografie selectivă

Corciova, A.; Ciobanu, C.; Poiata, A.; Nicolescu, A.; Drobeta, M.; Varganici, C.D.; Pinteala, T.; Fifere, A.; Marangoci, N.; Mircea, C. Inclusion Complexes of Hesperidin with Hydroxypropyl-Beta-Cyclodextrin. Physico-Chemical Characterization and Biological Assessment, *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, **2014**, 9(4): 1623-1637.

Durdureanu-Angheluta, A.; Dascalu, A.; Fifere, A.; Coroaba, A.; Pricop, L.; Chiriac, H.; Tura, V.; Pinteala, M.; Simionescu, B.C. Progress in the synthesis and characterization of magnetite nanoparticles with amino groups on the surface, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, **2012**, 324: 1679-1689

Easo, S.L.; Mohanan, P.V. Hepatotoxicity evaluation of dextran stabilized ironoxide nanoparticles in Wistar rats, *International Journal of Pharmacy* , **2016**, 509, 28–34

Kolhatkar, A.G.; Jamison, A.C.; Litvinov, D.; Willson, R.C.; Lee, T.R. Tuning the Magnetic Properties of Nanoparticles, *International Journal of Molecular Science* , **2013**, 14(8), 15977-16009

Lungoci, A.L.; Pinteală, M.; Petrovici, A.R.; Roșca, I.; Turin-Moleavin, I.A.; Fifere, A. Biosynthesis of dextran-coated magnetic nanoparticles with antifungal activity, *Revue Roumaine de Chimie*, **2018**, 63(5-6), 497-503

Marangoci, N.; Mares, M.; Sillion, M.; Fifere, A.; Varganici, C.; Nicolescu, A.; Deleanu, C.; Coroaba, A.; Pinteala, M.; Simionescu, B.C. Inclusion complex of a new propiconazole derivative with β -cyclodextrin: NMR, ESI-MS and preliminary pharmacological studies, *Research in Pharmaceutical Sciences*, **2011**, 1(1), 27–37

Minea, B.; Marangoci, N.; Peptanariu, D.; Rosca, I.; Nastasa, V.; Corciova, A.; Varganici, C.; Nicolescu, A.; Fifere, A.; Neamtu, A.; Mares, M.; Barboiu, M.; Pinteala, M. Inclusion complexes of propiconazole nitrate with substituted β cyclodextrins: the synthesis and *in silico* and *in vitro* assessment of their antifungal properties, *New Journal of Chemistry*, **2016**, 40(2), 1765-1776

Pulido-Reyes, G.; Rodea-Palomares, I.; Das, S.; Sakthivel, T.S.; Leganes, F.; Rosal, R.; Seal, S.; Fernández-Piñas, F. Untangling the biological effects of cerium oxide nanoparticles: The role of surface valence states, *Scientific Reports*, **2015**, 5, 15613.

Rosca, I.; Petrovici, A.R.; Peptanariu, D.; Nicolescu, A.; Dodi, G.; Avadanei, M.; Ivanov, M.C.; Bostanaru, A.C.; Mares, M.; Ciolacu, D. Biosynthesis of dextran by *Weissella confusa* and its *In vitro* functional characteristics, *International Journal of Biological Macromolecules*, **2018**, 107, 1765–1772

Uritu, C.M.; Calin, M.; Maier, S.S.; Cojocaru, C.; Nicolescu, A.; Peptanariu, D.; Constantinescu, C.A.; Stan, D.; Barboiu, M.; Pinteala, M. Flexible cyclic siloxane core enhances the transfection efficiency of polyethylenimine-based non-viral gene vectors, *Journal of Materials Chemistry B*, **2015**, 3(42): 8250-8267

Viota, J.L.; Carazo, A.; Munoz-Gamez, J.A.; Rudzka, K.; Gomez-Sotomayor, R.; Ruiz-Extremera, A.; Salmeron, J.; Delgado, A.V. Functionalized magnetic nanoparticles as vehicles for the delivery of the antitumor drug gemcitabine to tumor cells. Physicochemical *in vitro* evaluation, *Materials Science and Engineering C*, **2013**, 33(3), 1183-1192