

Raport științific și tehnic

- Etapa de execuție nr. 2/2021 -

Perioada de raportare: 04/01/2021 – 31/12/2021

Titlu:

Obținerea și testarea bionanoconjugatelor de (Fe-Co)_f-g-CDs SPMNPs privind viabilitatea/toxicitatea celulară și hipertermia superparamagnetică (SPMHT), și testarea/validarea in vitro a metodei SPMHT cu nanobioconjugate de (Fe-Co)_f-g-CDs asupra cancerului de piele și carcinom mamar

Rezultate de etapa propuse:

1 Nano-bioproduct: bionanoconjugate SPM de (Fe-Co)_f-g-CDs (EM - Model Experimental);
2-3 lucrări ISI;
2 Conferințe Internaționale;

- **Rezultatele de etapa propuse au fost realizate integral, chiar semnificativ depășite** (a se vedea și mai jos, la Diseminarea rezultatelor):
 - **1 nano-bioproduct: nanoparticule de ferită de $\text{Co}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ bioconjugate cu γ -ciclodextrine ((Fe-Co) $_f$ - γ -CDs);**
 - **6 lucrări ISI, din care 4 în zona **rosie**;**
 - **2 capitole de cercetare într-un volum științific la Editura WILEY, indexată Web of Science (WoS);**
 - **3 Conferințe, din care 2 internaționale indexate Web of Science (WoS);**

Diseminarea rezultatelor obținute:

Lucrări ISI:

[1] **Isabela Simona Caizer, Costica Caizer**, *Superparamagnetic Hyperthermia with Cobalt Ferrite Nanoparticles Covered with γ -Cyclodextrins for Application in Alternative Cancer Therapy*, **Applied Sciences**, (2021) (IF: **2.679**; **Q2 - yellow area**). Submitted.

[2] **Costica Caizer**, *Computational study regarding $\text{Co}_x\text{Fe}_{3-x}\text{O}_4$ ferrite nanoparticles with tunable magnetic properties in superparamagnetic hyperthermia for effective alternative cancer therapy*, **Nanomaterials**, 11 (2021) 3294 (IF: **5.076**; **Q1 - red area**).

[3] **Costica Caizer, Isabela Simona Caizer**, *Study on maximum specific loss power in Fe_3O_4 nanoparticles decorated with biocompatible gamma-cyclodextrins for cancer therapy with superparamagnetic hyperthermia*, **International Journal of Molecular Sciences**, 22 (2021) 10071 (IF: **5.924**; **Q1 - red area**).

[6] Elena-Alina Moaca, **Claudia Geanina Watz**, Vlad Socoliuc, Roxana Racoviceanu, Cornelia Pacurariu, Robert Ianos, Simona Cînta-Pînzaru, Lucian Barbu Tudoran, Fran Nekvapil, Stela Iurciuc, **Codruta Șoica, Cristina Adriana Dehelean**, *Biocompatible magnetic colloidal suspension used as a tool for localized hyperthermia in human breast*

adenocarcinoma cells: physicochemical analysis and complex in vitro biological profile, **Nanomaterials**, 11 (2021) 1189 (IF: 5.076; Q1 - red area).

[7] **Costica Caizer**, *Theoretical study on specific loss power and heating temperature in CoFe_2O_4 nanoparticles as possible candidate for alternative cancer therapy by superparamagnetic hyperthermia*, **Applied Sciences**, 11 (2021) 5505 (IF: 2.679; Q2 - yellow area).

[8] **Costica Caizer**, *Optimization study on specific loss power in superparamagnetic hyperthermia with magnetite nanoparticles for high efficiency in alternative cancer therapy*, **Nanomaterials**, 11 (2021) 40 (IF: 5.076; Q1 - red area).

Capitole de cercetare in volume indexate WoS:

[4] **Costica Caizer**, *Magnetic/Superparamagnetic hyperthermia in clinical trials for noninvasive alternative cancer therapy*. In: *Magnetic Nanoparticles in Human Health and Medicine: Current Medical Applications and Alternative Therapy of Cancer* (Caizer C. and Rai M. (Eds.)), **WILEY**, 2021, pp. 430–463 (WoS).

[5] **Costica Caizer, Cristina Dehelean, Codruta Soica**, *Classical magnetoliposomes vs. current magnetocyclodextrins with ferrimagnetic nanoparticles for high efficiency and low toxicity in noninvasive alternative therapy of cancer by magnetic/superparamagnetic hyperthermia*. In: *Magnetic Nanoparticles in Human Health and Medicine: Current Medical Applications and Alternative Therapy of Cancer* (Caizer C. and Rai M. (Eds.)), **WILEY**, 2021, pp. 272–306 (WoS).

Conferinte:

1. **C. Caizer, I.S. Caizer, C. Soica, R. Racoviceanu, M. Mihoc**, *The $(\text{Co-Fe})_f$ ferrite biocompatible magnetic nanoparticles for increasing efficacy and reducing toxicity in superparamagnetic hyperthermia for alternative cancer therapy*, **13th International Conference on Physics of Advanced Materials (ICPAM-13)**, September 24–30, 2021, Sant Feliu de Guixols, Spain. Abstract Book: pp. 47–49. (WoS).

2. Roxana Racoviceanu, **Marius Mioc**, Roxana Ghiulai, Alexandra Ulici, Andreea Milan, **Codruța Șoica**, *Synthesis and characterization of cobalt doped magnetite nanoparticles destined for hyperthermia applications*, **Congresul National de Farmacie**, Ed. XVIII, 15–17 sept., 2021, Oradea, Romania. ID: 254.

3. R. Racoviceanu, **M. Mioc, C. Soica, C. Caizer and I.S. Caizer**, *Cobalt doped Fe_3O_4 nanoparticles – synthesis, characterization and magnetic hyperthermia application*, **TIM 20-21 Physics Conference**, November 11th–13th, 2021, Timisoara, Romania. Abstract Book: API-O12. (WoS).

Rezumat

Terapia eficienta a cancerului cu toxicitate cat mai redusa este astazi o problema care ridica dificultati majore in tratarea tumorilor maligne, deoarece chimio – si radioterapia utilizate curent in acest domeniu prezinta un grad ridicat de toxicitate, iar in multe cazuri acestea sunt ineficiente. De aceea, se cauta rapid solutii *alternative* in terapia cancerului, care sa conduca la o *crestere a eficacitatii si reducere, sau chiar eliminare, a toxicitatii* asupra organismului. Una dintre metodele alternative despre care cercetatorii cred ca va fi metoda viitorului in terapia cancerului este hipertermia *superparamagnetica* (SPMHT), recent aplicata in acest domeniu, deoarece aceasta poate fi efica in distrugerea in intregime a tumorilor cu toxicitate redusa, sau chiar fara toxicitate asupra tesuturilor sanatoase.

Hipertermia superparamagnetica utilizeaza *efectul termic natural* pentru distrugerea celulelor canceroase, obtinut ca urmare a fenomenului de relaxare magnetica in nanoparticulele superparamagnetice introduse in tumora, care se incalzesc la 42–43 °C sub actiunea unui camp magnetic alternativ cu frecventa in domeniul sutelor de kHz aplicat din exterior. Insa, eficacitatea acestei metode alternative depinde foarte mult de gasirea conditiilor *optime* in care aceasta metoda trebuie sa fie aplicata in tratarea cancerului. Astfel, pe langa *tipul nanoparticulelor* magnetice, *biocompatibilitatea* cu tesutul biologic, pentru eliminarea toxicitatii, si *biofunctionalizarea* lor, care trebuie sa fie adecvate scopului urmarit, un parametru cheie care trebuie cunoscut este *marimea* (diametrul D) nanoparticulelor magnetice. Totodata, gasirea parametrilor cei mai potriviti pentru campul magnetic alternativ exterior, respectiv *amplitudinea* (H) si *frecventa* (f) *campului magnetic*, sunt la fel de importanti in eficienta si eficacitatea metodei hipertermiei magnetice' [1].

In etapa 2 a proiectului (2021), urmarind indeplinirea obiectivelor propuse, pentru realizarea scopului final (obiectivul general) privind utilizarea nanoparticulelor de ferita de Co-Fe, notate simbolic $(\text{Fe-Co})_f$, avand formula $\text{Co}_x\text{Fe}_{(3-x)}\text{O}_4$ cu $x = 0-1$, acoperite cu gama ciclodextrine (γ -CDs) in terapia cancerului prin hipertermie superparamagnetica (SPMHT), cu *eficacitate crescuta* si *toxicitate cat mai redusa* (sau chiar fara toxicitate), s-a studiat mai intai (Obiectiv 1) comportarea si relaxarea magnetica a nanoparticulelor obtinute in camp magnetic. Aceasta s-a facut atat la amplitudine mica a campului magnetic (in vederea utilizarii nanoparticulelor in hipertermia magnetica), dar si la amplitudine mare, pentru determinarea marimilor magnetice macroscopice de interes in hipertermia magnetica (magnetizarea de saturatie, susceptivitatea magnetica initiala). Studiul s-a facut la temperatura camerei, dar si la temperatura utilizata in hipertermia magnetica. Tinand cont si de rezultatele obtinute in etapa 1 a proiectului, s-a studiat apoi experimental hipertermia magnetica cu nanoparticulele de $\text{Co}_x\text{Fe}_{(3-x)}\text{O}_4$ pentru diferite concentratii x ale ionilor de Co^{2+} , inregistrandu-se diagramele termice temperatura–timp ($T-t$) pentru diferite concentratii ale nanoparticulelor in suspensie (1–30 mg/mL), si s-a evaluat si puterea specifica disipata functie de parametrii specifici pentru hipertermia magnetica, urmarindu-se optimizarea ei.

Pentru biocompatibilizarea nanoparticulelor magnetice cu mediul biologic si eliminarea citotoxicitatii, nanoparticulele de $(\text{Fe-Co})_f$ cele mai potrivite pentru a fi utilizate in SPMHT au fost acoperite cu gamma-ciclodextrine (γ -CDs) (Obiectiv 2), si s-a testat apoi viabilitatea/toxicitatea celulara a lor.

Bionanoparticlele obtinute de $(\text{Fe-Co})_f$ - γ -CDs, cele mai potrivite ca si concentratie x pentru hipertermia magnetica, au fost testate pentru obtinerea hipertermiei in conditii optime, respectiv pentru obtinerea unei puteri specifice disipate *maxime* si a unei temperaturi de incalzire a nanoparticulelor de ~42.5 °C intr-un timp cat mai scurt (Obiectiv 3). Studiile au avut in vedere marimea nanoparticulelor (D), concentratia (x) ionilor de Co^{2+} , parametrii campului magnetic alternativ (amplitudinea campului H si frecventa f), si concentratia nanoparticulelor in suspensie (1-30 mg/mL). In paralel, s-a studiat si testat viabilitatea/toxicitatea nanoparticulelor de $(\text{Fe-Co})_f$ (Obiectiv 4) si a bionanoparticulelor de $(\text{Fe-Co})_f$ - γ -CDs (Obiectiv 5) asupra celulelor normale, pentru diferite concentratii ale nanoparticulelor si bionanoparticulelor in suspensie: 0,2–30 mg/mL, pentru a se gasi dozele cele mai potrivite in hipertermia magnetica (relatia doza-efect).

In baza rezultatelor obtinute, s-a testat hipertermia superparamagnetica in vitro (Obiectiv 6), urmarindu-se a se obtine efectul hipertermic cat mai pronuntat asupra celulelor, in conditiile gasite prin studiile anterioare, privind diferiti timpi de expunere la camp, diferite amplitudini si frecvente ale campului magnetic alternativ, precum si diferite rapoarte $(\text{Fe-Co})_f / \gamma\text{-CDs}$ - $(\text{Fe-Co})_f / \text{volum celular}$ (doze / concentratii). In experimente s-a urmarit mentinerea temperaturii constante de 42,5 °C necesara in hipertermia magnetica, prin

controlul asupra amplitudinii campului magnetic exterior. S-a urmarit astfel, efectul hipertermiei magnetice asupra celulelor si stabilirea relatiei doza - efect biologic prin aplicarea unor dilutii succesive $(\text{Fe-Co})_f / \gamma\text{-CDs} - (\text{Fe-Co})_f / \text{volum celular}$.

In final, analizand toate rezultatele obtinute anterior pentru cazurile care dau cele mai bune rezultate *in vitro*, s-a stabilit un protocol de lucru practic pentru implementarea hipertermiei superparamagnetice magnetice *in vitro*.

In etapa aceasta s-a testat hipertermia superparamagnetica utilizand nanoparticulele de Fe_3O_4 ($x = 0$) si $\text{Co}_x\text{Fe}_{(3-x)}\text{O}_4$ cu $x = 0.05$ si 0.1 acoperite cu $\gamma\text{-CDs}$, notate simbolic $(\text{Fe-Co})_f\text{-}\gamma\text{-CDs}$, care au fost stabilite anterior ca fiind cele mai potrivite pentru utilizarea in hipertermie. Suplimentar s-a utilizat pentru testare si verificare experimentală si proba cu concentratia $x = 1$, pentru care studiile teoretice nu au condus la rezultate notabile. Prin aceasta s-a urmarit stabilirea parametrilor optimi si a conditiilor in care poate fi aplicata practic hipertermia superparamagnetica (SPMHT) *in vitro*, in vederea terapiei cancerului. Acest studiu este foarte necesar si pentru urmatoarea etapa, de implementare a hipertermiei SPMHT *in vivo*.