

Raport științific – tehnic final

(2018 - 2021)

Competitia:	Proiecte Complexe realizate în consorții CDI - PCCDI			
Nr. contract:	37PCCDI/2018			
Domeniul de cercetare:	4 - Eco-nano-tehnologii și materiale avansate			
Titlul :	PLATFORME TERANOSTICE ANTITUMORALE PE BAZĂ DE CARBON DOTS ȘI MATRICE POLIMERICE			
Acronim:	TERADOT			
Durata (luni):	43			
Buget total:	5.287.500,00 lei			
- Proiecte componente:	5.060.000,00 lei			
- Cheltuieli cu managementul:	174.500,00 lei			
- Cecuri:	53.000,00 lei			
Pagina Web proiect:	http://www.cercetare.icpm.tuiasi.ro/proiecte/TERADOT/			
Institua coordonatoare:	UNIVERSITATEA TEHNICĂ "GHEORGHE ASACHI" IAȘI			
Director de proiect:	Acad. Prof. Dr. Ing. Bogdan Simionescu			
Partener 1 proiect complex (P1):	INSTITUTUL DE CHIMIE MACROMOLECULARA "PETRU PONI"			
Partener 2 proiect complex (P2):	INSTITUTUL REGIONAL DE ONCOLOGIE IAȘI			
Partener 3 proiect complex (P3):	INSTITUTUL NATIONAL DE CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU FIZICA TEHNICA-IFT IASI			
Nr. proiecte componente:	3			
Proiecte componente	Titlul proiect component	Institua coordonatoare proiect component	Instituii implicate (CO,P1..Pn)	Buget proiect component
Proiect component 1	Nanostructuri de tip Carbon Dots preparate din derivați imidici, cu aplicații în imagistica medicală și terapeutica antitumorală	UNIVERSITATEA TEHNICĂ "GHEORGHE ASACHI" IAȘI	CO,P1,P2,P3	1.908.877
Proiect component 2	Biocompozite macromoleculare pe bază de carbon dots cu aplicații în diagnosticarea, monitorizarea și tratamentul unor forme de cancer	INSTITUTUL DE CHIMIE MACROMOLECULARA "PETRU PONI"	P1,CO,P2,P3	1.658.011
Proiect component 3	Procedeu de sinteză la scară pilot a nanostructurilor de tip Carbon Dots pentru aplicații medicale	INSTITUTUL NATIONAL DE CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU FIZICA TEHNICA-IFT IASI	P3,CO,P1,P2	1.493.112

1. Prezentare generala a realizarii obiectivelor proiectului, cu punerea in evidenta a rezultatelor si gradul de realizare a obiectivelor. Prezentarea trebuie sa includa explicatii care sa justifice diferentele (daca exista) dintre activitatile preconizate si cele realizate. (max. 5 pag.)

Obiectivul general al proiectului este obținerea de nanostructuri de tip Carbon Dots preparați din precursori imidici și a unor biocompozite polimerice cu conținut de Carbon Dots utilizabile ca platforme teranostice antitumorale. De asemenea, proiectul de cercetare urmărește elaborarea unei instalații la scară de pilot pentru sinteza nanostructurilor de tip Carbon Dots utilizabile ca platforme teranostice antitumorale. Este de subliniat faptul că acțiunea antitumorală a fost observată în special în cazul nanostructurilor de tip Carbon Dots provenite din precursori imidici, care au fost sintetizați și investigați în premieră de către cercetători din cadrul TUIasi. Prin urmare, studiile privind activitatea antitumorală a Carbon Dots imidici s-au concentrat pe tipurile provenite din procesarea pirolitică a precursorilor N-Hidroxifitalimidă (NHF) și N-Hidroxisuccinimidă (NHS). În cadrul **Proiectului component 1**, într-o primă etapă, studiile efectuate cu ajutorul unei instalații experimentale la scară de laborator configurată în prima etapă a proiectului, au permis decelarea fazelor de proces, optimizarea acestora cât și stabilirea parametrilor pentru fiecare etapă în parte. În Figura 1 este prezentată instalația la scară de laborator concepută pentru obținerea nanostructurilor de tip Carbon Dots imidici utilizați în studiile efectuate în cadrul Activităților 1.3 – 1.6 fiind de asemenea utilizată ca bază experimentală pentru activitățile 1.7 și 1.8. permițând atât obținerea cantităților de nanostructuri tip Carbon Dots necesare activităților de testare *in vitro* și *in vivo*, analiza fizico-chimică aprofundată a tuturor varietăților de Carbon Dots studiate cât și studiilor experimentale care au permis obținerea de Carbon Dots dopate cu Gd(III), Fe(III) și Mn(II)

destinate studiului privind utilizarea acestora ca agenți de contrast RMN și obținerea platformelor teranostice de tratament antitumoral și investigare imagistică RMN. De asemenea, instalația experimentală la scara de laborator a permis studiul aprofundat a configurației optime, a parametrilor de sinteză și al altor detalii experimentale care au permis configurarea constructivă în cadrul Proiectului 3 a instalației de obținere a nanostructurilor de tip Carbon Dots la scara pilot. Nanostructurile de tip Carbon Dots imidici au fost investigate morfo-structural în detaliu, obținându-se o serie de concluzii privind configurația acestora care au fost publicate în reviste cotate ISI cu factor de impact semnificativ. Investigările, rezultatele acestora cât și concluziile aferente au fost detaliate în Raportul de cercetare științifică aferent etapelor 2018-2019. Sinteza, studiul experimental condus în cadrul cercetărilor privind obținerea de nanostructuri Carbon Dots imidici pentru platforme teranostice antitumorale au condus suplimentar și la obținerea unor noi materiale higrosensibile pe baza de Carbon Dots dopati cu Fe(III) care prezintă o emisie fotoluminescentă intensă dependentă de conținutul de apă. Acest tip de materiale constituie, de asemenea, o premieră în

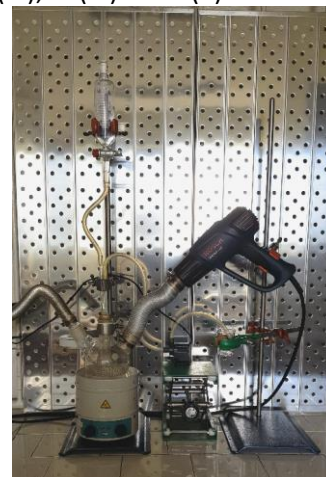


Figura 1. *Instalația de obținere Carbon Dots la scara de laborator*

domeniu și prezintă interes pentru dezvoltarea unor noi aplicații atât în domeniul senzorilor cât și în cel al protecției împotriva radiației UV solare. Activitatea antitumorală și acțiunea ca agent de contrast RMN (în cazul C Dots dopați) a nanostructurilor tip Carbon Dots preparate din precursori imidici, și a celor dopate cu Gd(III), Fe(III) și Mn(II) au fost testate cu rezultate remarcabile.

Succint, studiile *in vitro* bazate pe parametrul biologic în vederea stabilirii protocolului de diagnostic măsurat ca indicator de efect biologic al Carbon Dots preparate din NHF și NHS a fost viabilitatea celulară pe multiple linii reprezentative umane normale și tumorale precum și o linie murină mamară corespondentă cu linie mamară tumorală umană, în vederea perspectivei de testare a efectelor antitumorale pe model animal(Figura 2). Observațiile microscopice intercurente pe culturile testate au sugerat că impactul maxim de eficiență nu se produce în primele ore de coincubare, ci devine vizibil citologic după 48 ore de la administrarea dispersiei de Carbon Dots. În Figura 2 sunt prezentate datele de măsurare scorizate. Parcurgerea tabelului indică în primul rând diferențe de sensibilitate dintre diversele tipuri de celulare sub acțiunea celor două tipuri de C-Dots (NHF și NHS), ceea ce sugerează structuralitate de interacție biologică distinctă - realitate foarte promițătoare pentru dezvoltarea cercetării acestor structuri și diferențe de impact între cele două tipuri de C-Dots imidici. Studiile *in vitro* (culturi celulare) nu pot înlocui complexitatea organismului și de aceea evaluările *in vivo* (model animal) au un rol major în testările preclinice. Pentru a

evalua influența C-Dots NHF în evoluția tumorii și diseminarea metastazelor, celule canceroase mamare murine s-au injectat ortotopic în șoareci din specia Balb/c. Modelul animal ales este frecvent utilizat în studiul cancerului mamar deoarece redă complexitatea interacțiilor tuturor sistemelor (hormonal, imunitar, nervos etc). În acest studiu s-a indus modelul mamar tumoral prin injectarea celulelor liniei murine triplu negative 4T1 în glanda mamară (1 milion celule/soarece). Linia de celule de cancer mamar murin (4T1) este extrem de invazivă și metastazează la nivelul ganglionilor limfatici, plămânilor, creierului, ficatului, osului, ovarului similar cancerului uman de sân triplu negativ în stadiul IV. La 2 săptămâni după injectare, când tumorile primare sunt vizibile, s-a început administrarea C-Dots preparați din NHF. Animalele au fost împărțite în: 1. grupul cu model tumoral indus dar fără nici un tratament adițional în vederea evaluării dezvoltării tumorale (tumora primară și metastaze) 2. grupul cu model tumoral indus și 10% C-Dots per volum sanguin (administrat prin injectare intraperitoneală); 3. grupul cu model tumoral indus și 20% concentrație de C-Dots; 4. grupul fără model tumoral indus dar cu administrare de C-Dots în vederea evaluării toxicității (N=9 șoareci/grup). Prezența metastazelor în organe este reflectată de creșterea greutății organelor comparativ cu lotul fără tumori induse. Tratamentul cu 10% și 20% C-Dots preparați din NHF a redus rata de creștere a tumorii primare și diseminarea metastazelor (Figura 3). Analiza histologică a evidențiat metastazarea excesivă la nivelul plămânilor de la șoareci cu tumori netratate 4T1, în timp ce șoarecii tratați cu 10% și 20% C-Dots NHF au arătat reducerea formării metastazelor pulmonare. În general, profilul de supraviețuire a fost semnificativ prelungit în ambele grupuri tratate cu CDots-NHF 10%, respectiv 20%. Profilul de supraviețuire se corelează cu reducerea tumorii primare, reducerea numărului și dimensiunilor metastazelor din organele colectate. Se demonstrează astfel că prezența C Dots NHF diminuează progresia cancerului mamar și metastazarea prin interacțiunea în diferite scenarii

moleculare cu diverse molecule cheie esențiale în reducerea fenomenelor de invazivitate și metastazare. Sintetizarea cu succes în cadrul proiectului a unor nanostructuri de tip C Dots dopate cu Gd(III), Fe(III) și Mn(II), conform obiectivului principal al proiectului privind obținerea unor platforme teranostice antitumorale pe baza de C Dots imidici, a permis derularea unor studii *in vitro* și *in vivo*. Astfel, analizele de viabilitate celulară au arătat că nanostructurile C Dots dopate cu Gd(III) și Fe(III) au o toxicitate ridicată la nivelul celulelor mamare normale (Fig. 4. A_3,4) față de C Dots dopați cu Mn(II) (Fig. 4. A_2). În același timp, acțiunea antitumorală a C-Dots-Mn(II) este semnificativ crescută (Fig. 4. B_2) față de cea a CDots Gd(III) și CDots Fe(III) (Fig. 4. B_3,4). Evaluarea efectului antitumoral *in vitro* pe linii celulare mamare a fost urmată de evaluarea prin tehnica de rezonanță magnetică (MRI). Design-ul experimentului a avut în vedere evaluarea potențialului de îmbunătățire a semnalului MRI atât în secvențe de tip T1 cât și T2, utilizând diferite

concentrații de nanoparticule, dispersate într-un gel de agaroză 1% preparat în soluție tampon fosfat 0.01M, la un pH de 7.4. Au fost testați un număr de 4 compuși, după cum urmează: (1) Carbon Dots necomplexați, considerată probă de control negativ – Control (-), (2) Carbon Dots dopați cu Gd(III), considerată probă control pozitiv - Control (+), (3) Carbon Dots dopați cu Fe(III) și (4) Carbon Dots dopați cu Mn(II). Eficacitatea compușilor testați pentru îmbunătățirea semnalului MRI a fost realizată prin determinarea timpilor de relaxare T1 și T2 (longitudinal și

Tip de celule	Tip de C-Dots	
	NHF	NHS
MDA-MB231 (Human breast adenocarcinoma)	++	+
A549 (Lung carcinoma)	++	+
A375 (Human malignant melanoma)	++	-
RPM18226 (Plasmacytoma; Myeloma)	++	-
HT29 (Colorectal adenocarcinoma)	-	++
4T1 (Mouse breast cancer)	-	++
L363 (Human malignant melanoma)	-	++
U87 (Glioblastoma astrocytoma - human brain)	-	-
HMLE (Human mammary epithelial cells)	-	-

Figura 2. Efectul Carbon Dots imidici asupra diferitelor linii celulare tumorale

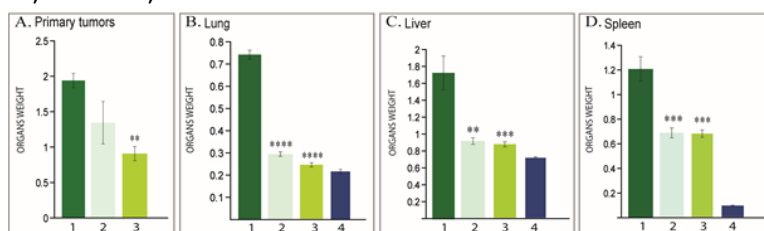


Figura 3. Greutate organe/grame. A. Tumora primară. B. Plămân. C. Ficat. D. Splina. 1. Șoareci cu tumori induse netratate cu CD-NHF; 2. Șoareci cu tumori induse tratați cu 10% CD-NHF; 3. Șoareci cu tumori induse tratați cu 20% CD-NHF; 4. Organe de la șoareci fără tumori. **p<0.005, ***p<0.0005, ****p<0.000005

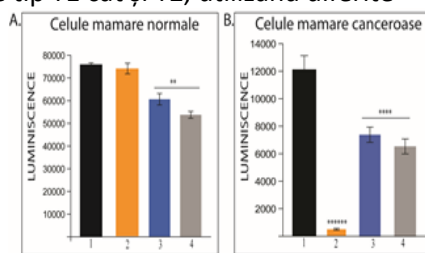


Figura 4. A-Celule mamare normale; B-Celule mamare canceroase; 1-control, 2-CDots-Mn(II), 3-CDots-Gd(III), 4-CDots-Fe(III)

transversal), urmărindu-se scurtarea acestor timpi. Valorile calculate pentru timpii de relaxare longitudinală (T1) și transversală (T2) obținute prin scanarea MRI a probelor (3) și (4) în comparație cu probele de control Control (1) și Control (2) sunt prezentate în Tabelul de mai jos și în Figura 5.

Compus	T1						T2					
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C1	C2	C3	C4	C5	C6
Contr (-) (1)	1679,69	1690,17	1636,16	1680,02	1656,76	1676,61	101,77	109,34	115,43	101,11	107,61	102,59
Contr (+) (2)	1720,66	1472,4	1459,21	1245,63	1217,01	1218,37	98,5	95,3	91,4	93,3	94,8	92,2
CDots-Fe(III) (3)	1515,06	1612,69	1489,10	1507,28	1509,18	1448,14	114,5	103,9	100,49	102,92	101,76	96,49
CDots-Mn(II) (4)	1519,41	1446,74	1079,98	943,81	959,98	959,27	101,54	96,35	88,73	85,91	83,55	84,88

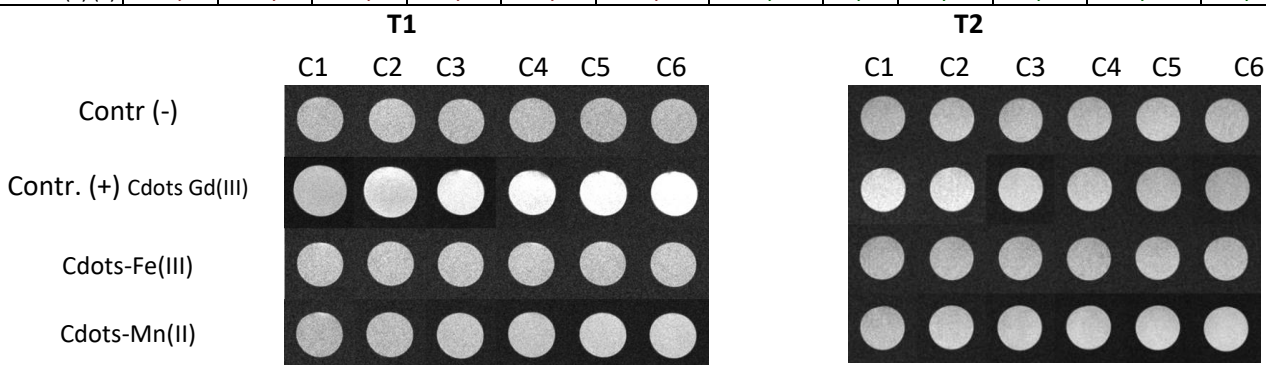


Figura 5. Datele imagistice MRI a probelor (1),(2),(3),(4) obținute în aceleași condiții și secțiuni

Din datele obținute se observă capacitatea CDots dopate cu Mn(II) de a scurta atât T1 cât și T2, cu creșterea concentrațiilor de la C1 (0.005 mg/mL) la C6 (0,03 mg/mL), în cazul CDots dopați cu Gd(III) respectiv Fe(III) se evidențiază o acțiune mai discretă și care variază mai puțin cu concentrația.

Două grupuri de șoareci purtători de tumori (femele din specia Balb/c), cuprinzând 6 șoareci per grup, au fost investigați o dată pe săptămână prin scanare RMN: un grup numit „Tratat” care a primit Mn-CDs-NHF ca agent teranostic prin administrare intraperitoneală (i.p) și un alt grup numit „Control”, primind doar Gadovist, un agent de contrast comercial. În plus față de capacitățile îmbunătățite de contrast RMN ale Mn-CDs-NHF relativ la agentul comercial Gadovist, este de asemenea esențial să observăm că, în comparație cu grupul de control (Figura 6_Gadovist), volumul tumorilor primare este redus în Mn - Grup tratat cu CD-NHF (Figura 6_Mn-CD-uri-NHF) așa cum este rezumat în Figura 6B. Aceste date demonstrează că agentul teranostic propus Mn-CDs-NHF îndeplinește în același timp rolul de a crește contrastul RMN, precum și caracteristicile antitumorale. Datele obținute la investigațiile *in vivo* (Figura 7) demonstrează că doparea CD-NHF cu Mn²⁺ + nu afectează capacitatea CD-NHF de a reduce numărul de mitocondrii din celulele canceroase.

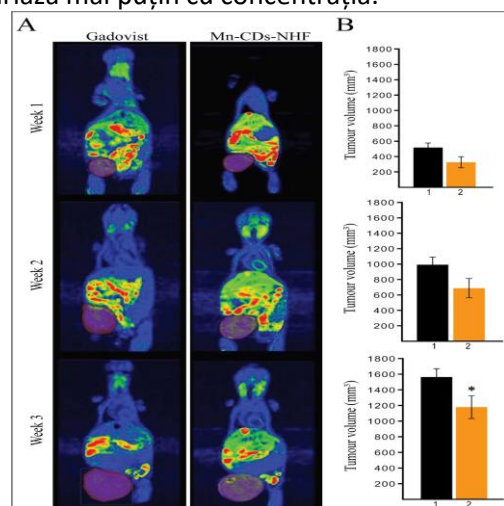


Figura 6 Imagini RMN și scorizare a șoarecilor purtători de tumori tratați cu Gadovist sau Mn-CDs-NHF. (A) Imagine RMN (B) Scorizarea volumului tumorii primare pentru fiecare grup tratat. 1. Gadovist, Mn-CDs-NHF 2. p < 0,05

În cadrul Proiectului component 1 au fost derulate activitățile conform Planului de realizare, obiectivele fiind atinse, neexistând diferențe față de planul de cercetare inițial. Platformele teranostice pe bază de Carbon Dots imidici dopate cu Mn(II) pot constitui o alternativă relevantă în terapia antitumorală și diagnosticul RMN.

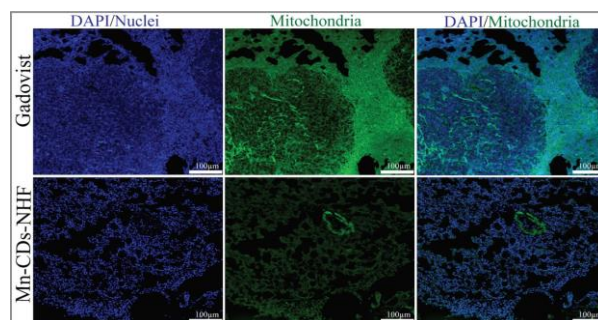


Figura 7 Colorarea prin imunofluorescență a mitocondriilor în specimene de plămâni murine încorporate în parafină. Imagini obținute la 20x

În cadrul **Proiectului component 2** s-a propus într-o primă etapă realizarea de biocompozite pe bază de polimeri mucoadezivi pentru ca în etapele următoare să se realizeze sisteme micro și nanoparticulate care să aibă înglobați Carbon Dots. Toate aceste sisteme au fost testate din punctul de vedere al toxicității lor dar mai ales al activității antitumorale. Astfel, într-o primă etapă în urma experimentelor preliminare de obținere a gelurilor, au fost selectați următorii polimeri: *alginat de sodiu, carboximetil celuloza, guanozina și acid poliacrilic reticulat*. Proprietățile biocompatibile, mucoadezive și biodegradabile ale polimerilor enumerați anterior au recomandat materialele bazate pe acestea pentru utilizarea în domeniul biomedical. Pentru studii ulterioare s-au realizat studii orientate pe două direcții și anume: a) geluri bazate pe carbomer ultrez 10 (Carb) conform metodei raportate de Hellerbach și colaboratorii și modificată în cadrul proiectului, geluri pe bază de carbomer și alginat de sodiu precum și geluri pe bază de carbomer și carboximetil celuloză; b) Hidrogeluri pe bază de guanozină – borat ce utilizează acid boric modificat pentru îmbunătățirea biocompatibilității și a proprietăților de umflare a gelurilor. Au fost studiate mai multe proprietăți ale formulărilor obținute, însă proprietățile reologice au fost considerate decisive în alegerea formulărilor optime pentru încărcarea acestora cu Carbon Dots NHF. Figura 8 prezintă fotografiile

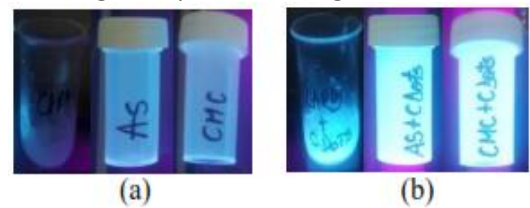


Figura 8. Imagini ale gelurilor pe bază de Carb, AS, respectiv CMC, (a) fără și (b) cu Carbon Dots excitate în UV

formulărilor încărcate cu CDots și anume Carb-F4, AS-F6, respectiv CMC-F6 excitate în UV la lungimea de undă 365 nm. Pe baza acestor imagini s-a observat vizual faptul că formularea CMC-F4 a prezentat o emisie mult mai puternică comparativ cu formulările Carb-F4 și AS-F6. Toate formulările selectate au fost testate din punctul de vedere al citotoxicității și al activității antitumorale. Impactul includerii în gel (carbomer) a nanoparticulelor de tip NHF relevă o potențare a activităților toxice peste nivelul asigurat în cazul administrării în soluție. În sistemul 3D s-a

constatat ca gelurile încărcate cu CD-NHF prezintă capacitatea de a reduce numărul, dimensiunea și organizarea celulară a sferoizilor, având, de asemenea, un impact semnificativ asupra capacității individuale a celulelor tumorale de a prolifera și a forma sferoizi/tumosfere. Rezultatele obținute indică faptul că gelurile încărcate cu CDots-NHF prezintă activități de modulare celulară complexe și interesante, relevante pentru controlul tumoral cu potențiale aplicații clinice. În următoarea etapă s-a realizat sinteza a trei sisteme diferite toate încărcate cu C-Dots: nanocapsule pe bază de poli(e-caprolactonă), nano/micro particule pe bază de hidroxizi dubli lamelari (LDHs) intercalați cu C-Dots și lipozomi pe bază de fosfatidil colină și colesterol încărcate cu C-Dots. Toate aceste tipuri de formulări au fost caracterizate din punct de vedere al proprietăților fizico-chimice și al abilităților lor ca potențiale platforme antitumorale. Dintre toate aceste sisteme, merită a fi menționați lipozomii încărcate cu C-Dots. Tipurile de lipozomii testați s-au diferențiat prin capacitatea acestora de a încapsula diferite principii active cum ar fi: a. LPs încărcate cu C-Dots-NHF (LPs-CD-NHF); b. LPs încărcate cu Doxorubicină (LPs-DOX); c. LPs încărcate cu C-Dots și Doxorubicină (LPs-CD-NHF-DOX) pentru a investiga *in vitro* îmbunătățirea metodei de livrare și implicit reducerea dozelor terapeutice utilizate. Au fost realizate teste calitative de determinare a proprietăților

de fotoluminiscentă ale formulărilor realizate la lumina zilei și la lumină UV utilizând o lampă Philips UVA TL4WBLB ce prezintă o emisie maximă în intervalul 370-390 nm la 50mW. Morfologia lipozomilor a fost analizată prin TEM. Datele experimentale din acest studiu demonstrează că încapsularea C-Dots în lipozomi au avut un efect pronunțat Antitumoral comparativ cu Carbon Dots simpli. În Figura 10 -

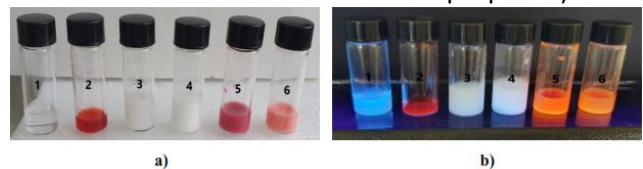


Figura 9. Fotografii ale suspensiilor de lipozomi 1) CDs-NHF; 2) DOX; 3) LPs; 4) LPs-CDs-NHF; 5) LPs-DOX, 6) LPs-CDs-NHF-DOX la a) lumina zilei și b) iluminare UV

Figura 10 - Efectul lipozomilor (LPs) încărcate cu CD-NHF. **A.** MDA-MDB231 (celule canceroase mamare umane); **B.** A549 (celule canceroase pulmonare umane); 1. Celule netratate; 2-4 Celule tratate cu lipozomi simpli; 5-7 Celule tratate cu CD-NHF simpli; 8-10 Celule tratate cu CD-NHF încăpsulate în lipozomi.

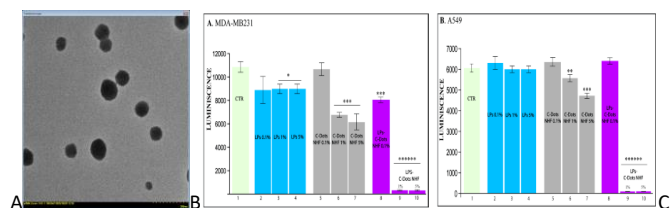


Figura 10. Efectul lipozomilor (LPs) încărcate

Nanostructurile lipidice cresc absorbția, eficiența terapiei și scad efectele adverse ale medicamentelor. Lipozomii sunt folosiți pe scară largă ca sisteme de administrare și reprezintă o abordare importantă în tratamentul oncologic. Toate aceste rezultate indică faptul că administrarea potențială a CD-NHF împreună cu terapii deja consacrate poate diminua efectele secundare ale chimioterapeuticilor prin reducerea concentrațiilor și a fenomenelor de rezistență la medicamente. Rezultatele *in vitro* obținute au evidențiat faptul că sistemul LP-CDs-NHF posedă activități de modulare celulară complexe și interesante, relevante pentru controlul cancerului și, de asemenea, potențial pentru aplicarea clinică.

În cadrul Proiectului component 2 au fost derulate activitățile conform Planului de realizare, obiectivele fiind atinse, neexistând diferențe față de planul de cercetare inițial.

În cadrul **Proiectului component 3** s-a urmărit realizarea a două obiective principale: (a) obținerea și testarea unor nanostructuri de tip Carbon Dots utilizabile ca platforme teranostice de investigare/tratament antitumoral și (b) extinderea capacităților proprii ale INCDFT-IFT Iași pentru dezvoltarea unor noi metode de tratament antitumoral ca urmare a transferului rezultatelor activităților de cercetare ale consorțiului către INCDFT-IFT Iași. Cele două obiective majore ale proiectului au fost îndeplinite integral cu obținerea următoarelor rezultate: (a) realizarea unui protocol pentru obținerea cu randament înalt a unor compozite pe baza de carbon dots (CDs) magnetice, având proprietăți antitumorale; (b) dezvoltarea unor soluții tehnice de separare, selecție dimensională și obținere în stare uscată a CDs; (c) obținerea unor soluții tehnice privind dispersia primară a masei de reacție și a impactului asupra caracteristicilor fizico-chimice ale CDs; (d) proiectarea, realizarea și testarea unui dispozitiv pentru prepararea hidrotermală a CDs imidici fluorescenți utilizabili ca platforme teranostice antitumorale; (e) proiectarea și realizarea unui echipament automatizat pentru sinteza nanostructurilor de tip CDs care operează după parametrii recomandați de coordonatorul proiectului, având următoarele avantaje: control computerizat integral al parametrilor de sinteză a carbon dots, automatizarea ciclurilor de răcire și curățare a camerei de sinteză, obținere de C-Dots sterili cu randament ridicat, portabilitate crescută. Optimizarea procesului de sinteză, realizat cu derivați imidici, a condus la obținerea celor mai buni parametri de lucru pentru un randament înalt de sinteză a nanostructurilor de tip CDs. Prin urmare, INCDFT-IFT Iași a realizat și testat cu succes două procedee de sinteză la scara pilot a nanostructurilor de tip CDs pentru aplicații medicale, utilizând două echipamente diferite, dintre care unul complet automatizat. În cadrul activităților aferente s-a evaluat gradul de reproductibilitate al procesului de sinteză a CDs. Evaluarea reproductibilității procesului de sinteză a presupus sinteza a trei probe în condiții identice. După tratamentele termice corespunzătoare aplicate precursorilor de reacție, s-a procedat la efectuarea de: *măsurători cantitative* ale produșilor de reacție ale celor trei probe, inclusiv după filtrarea mecanică a acestora; *măsurători de fluorescență, dimensionale (DLS)* și *de viabilitate celulară* pe o linie tumorală umană. Protocolul de lucru utilizat a permis obținerea cu reproductibilitate înaltă, la scară pilot, a CDs, randamentul mediu al reacției de transformare termică pentru cele trei probe fiind de cca. 77%. Din punct de vedere cantitativ, valorile obținute au fost foarte apropiate între ele, diferența procentuală masică maximă, după filtrare, fiind de 3,1% iar cea minimă de 0,7%. În concluzie, din punct de vedere al maselor de reacție obținute prin ardere, procesul de sinteză a arătat o **foarte bună reproductibilitate**. De asemenea, graficele spectrelor de fluorescență ale probelor au prezentat poziții foarte apropiate ale vârfurilor maximelor de intensitate. Măsurătorile DLS au arătat o deviație standard scăzută a valorilor dimensiunilor medii ale CDs. În final, testele *in vitro* efectuate pe celule tumorale de osteosarcom uman au arătat că efectele toxice ale celor trei probe au fost înalt reproductibile. Pentru evaluarea reproductibilității procesului fizic de obținere a CDs la scară pilot s-a utilizat urmatorul protocol de analiza: 1.Măsurători cantitative, 2.Măsurători de fluorescență, 3.Măsurători dimensionale, 4. Măsurători de viabilitate celulară. Procedeu la scară pilot elaborat pentru obținerea de C-Dots s-a dovedit a fi înalt reproductibil, atât din punct de vedere cantitativ, cât și calitativ, fapt dovedit inclusiv prin testele de viabilitate celulară efectuate pe o linie tumorală umană. Sinteza efectuată la scară pilot are, de asemenea, avantajul unui eficiențe crescute, este simplă, controlabilă prin ajustarea temperaturii de lucru, fiind ușor de realizat. Activitățile desfășurate au condus la: o metodă de obținere foarte versatilă și susceptibilă la modificări în ceea ce privește compoziția finală a produșilor de reacție și **la stabilirea unei soluții tehnice de purificare a precursorilor reacției**, dizolvați în soluții alcoolice, prin utilizarea de filtre cu dimensiuni nanometrice ale porilor.

În cadrul Proiectului component 3 au fost derulate activitățile conform Planului de realizare, obiectivele fiind atinse, neexistând diferențe față de planul de cercetare inițial.

2. Prezentarea obiectivelor si activitatilor realizate in perioada 2018 – 2021, pentru fiecare proiect component (max. 2 pag./proiect component)

În perioada 2018 – 2021, în cadrul **Proiectului component 1** s-au derulat studii finalizate cu succes pentru prepararea Carbon Dots din precursori imidici (NHS, NHF, SI), caracterizare fizico-chimică, optimizare structurală și optimizare parametri de sinteză care s-au efectuat pe instalația realizată la scara de laborator (pct.1, Figura 1). Studiile privind activitatea antitumorală a Carbon Dots imidici s-au concentrat în etapa 2018 pe tipurile provenite din procesarea termică a precursorilor N-Hidroxifitalimida (NHF), N-Hidroxisuccinimida (NHS) și Succinimida (SI). Utilizarea Carbon Dots imidici ca platforme teranostice de investigare și tratament antitumoral implică obținerea acestora în condiții de reproductibilitate ridicată a procesului pirolitic, capabil să producă nanostructuri de tip Carbon Dots cu caracteristici fizico-chimice. Studiile efectuate cu ajutorul instalației la scara de laborator au permis decelarea fazelor de proces, optimizarea acestora cât și stabilirea parametrilor pentru fiecare etapă în parte. Nanostructurile de tip Carbon Dots obtinute au fost caracterizate morfo-structural prin tehnici de investigare XPS, FT-IR, Raman, DLS, HR-TEM, AFM, rezultatele obținute susținând structura și proprietățile nanostructurilor de carbon sintetizate, fiind suplimentar utile pentru stabilirea parametrilor experimentali de sinteză și pentru studiile realizate *in vitro* pe liniile tumorale selectate. Nanostructurile de tip Carbon Dots preparate au fost testate *in vitro* pe linii tumorale selectate. Într-o primă fază de evaluare *in vitro* a emisiei fotoluminescente am demarat seria de validări ale proprietăților fotoluminescente (activitate fluorocromică) – în paralel cu măsurarea acțiunii citolitice. S-a constatat o activitate citolitică importantă (citoinhibitorie/citomodulatoare) diferențiată pentru nanostructurile de tip Carbon Dots preparate din N-Hidroxifitalimidă respectiv N-Hidroxisuccinimidă. Pentru ambele tipuri s-au identificat performanțe utile în raport cu dozele citoinhibitorii utile biologic. După cum a fost detaliat la pct.1 Figura 2, efectul Carbon Dots imidici asupra diferitelor linii celulare tumorale rezultatele indică în primul rând diferențe de sensibilitate între diversele tipuri de linii celulare sub acțiunea celor două tipuri de Carbon Dots (NHF și NHS), ceea ce sugerează structuralitate de interacție biologică distinctă (realitate foarte promițătoare pentru dezvoltarea cercetării acestor structuri). În al doilea rând s-au constatat diferențe de impact între cele 2 tipuri de Carbon Dots, efectele acestora fiind realizate prin mecanisme biochimice multiple și diferite reprezentate în mod diferențiat în variate tipuri diagnostice de malignitate. A fost studiat impactul asupra diferitelor tipuri de celule neoplazice mamare, colon, melanom, pulmon, mielom, gliom, rezultatele *in extenso* fiind detaliat în raportul de cercetare aferent primei etape. Biocompozitele de tip gel-Carbon Dots imidici (Figura 11) au fost studiate conform programului experimental, obținându-se geluri cu activitate antitumorală pe baza de carbomer ultrez 10, polizaharide (alginat de sodiu, carboximetil celuloză) și guanozina, în structura cărora au fost introduse Carbon Dots preparate din NHF și NHS. Proprietățile morfo-structurale ale gelurilor preparate precum și activitatea antitumorală au fost studiate în detaliu, rezultatele fiind detaliat în rapoartele de cercetare aferente primei și celei de a doua etape de desfășurare a proiectului. Investigarea *in vivo* a activității antitumorale a formulărilor pe bază de Carbon Dots pe model animal cu tumori induse a fost inițiată printr-o serie de studii *in vitro* deoarece mortalitatea cauzată de cancer este dată de complicațiile metastatice, fiind urmărit dacă prezența CD-NHF afectează invazia și migrația diferitelor tipuri de celule canceroase mamare. Pentru a elucida deplin acest aspect s-au efectuat teste efective de măsurare directă a celor 2 procese. Acestea cuprind: 1. linie tumorală mamară umană triplu pozitivă (MCF7); 2. linia umană triplu negativă (MDA-MB231); 3. linie triplu negativă omologă de șoarece (4T1) și 4. linie mamară normală (HMEC). Abilitatea de migrare a celulelor canceroase a fost scăzută de prezența Carbon Dots comparativ cu grupele netratate, în timp ce celulele normale nu au fost afectate. Rezultatele obținute la testarea *in vivo* sunt prezentate succint la pct. 1 Figura 3. În general, profilul de supraviețuire a fost semnificativ prelungit după tratamentul cu dispersii apoase cu concentrații de 10 respectiv 20% de Carbon Dots din NHF. Profilul de supraviețuire se corelează cu reducerea tumorii primare, reducerea numărului și dimensiunilor metastazelor din organele colectate, demonstrându-se astfel că prezența CD-NHF diminuează progresia cancerului mamar și metastazarea.

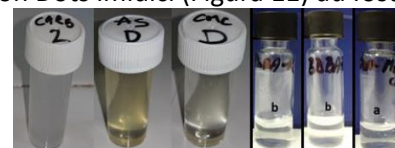


Figura 11. Biocompozite gel-Carbon Dots preparate

Activitățile aferente sintezei și studiului unor nanostructuri de tip C-Dots dopate cu Gd(III) au fost extinse cu studii privind obținerea unor C-Dots dopați cu Fe(III), respectiv cu Mn(II). Acest fapt a apărut ca o soluție alternativă la C-Dots dopați cu Gd(III) deoarece studiile preliminare au indicat un anumit grad de citotoxicitate a acestora. În urma studiului experimental efectuat au fost sintetizate cu succes nanostructuri

C-Dots dopate cu Fe(III) și Mn(II). În cazul C-Dots dopați cu Fe(III) s-au identificat o serie de proprietăți de emisie fotoluminescentă foarte interesante, comportamentul unic al acestora fiind o premieră în domeniul nanostructurilor C-Dots. Astfel, a fost evidențiată emisia fotoluminescentă care virează reversibil din zona albastră către zona verde a spectrului vizibil în funcție de cantitatea de apă prezentă. Metoda de preparare cât și particularitățile de emisie fotoluminescentă sunt prezentate în Figura 12. Pe lângă evaluarea acestor nanostructuri de tip C-Dots ca agent de contrast RMN au fost efectuate și o serie de studii suplimentare care au vizat utilizarea

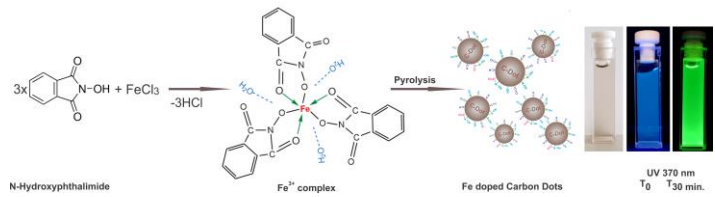


Figura 12. Prepararea, aspectul dispersiei apoase si emisia fotoluminescenta a Carbon Dots dopati cu Fe(III)

acestora ca agenți de protecție contra radiației UV. Nanostructurile de tip C-Dots dopate cu Gd(III) și Fe(III) preparate au fost caracterizate morfo-structural prin tehnici de investigare XPS, FT-IR, Raman, DLS, HR-TEM, AFM. Sinteza C-Dots dopate cu Mn(II) a fost efectuată în cadrul activităților asociate. În etapele ulterioare s-a evaluat efectul CD-NHF-Mn²⁺ *in vivo* pe model animal cu tumori mamare induse. În prima fază s-au testat în șoareci nativi (fără tumori) calitatea imagistică a compusului Carbon Dots-NHF-Mn²⁺ prin comparație cu compusul comercial Gadovist. Imaginile obținute arată abilitatea ridicată a compusului Mn-CDs-NHF ca agent de contrast RMN comparativ cu Gadovist, (agent comercial de contrast RMN) (Figura 13). Imaginile au fost obținute folosind aceleași secvențe, efectuate la 2 ore după administrarea i.p.

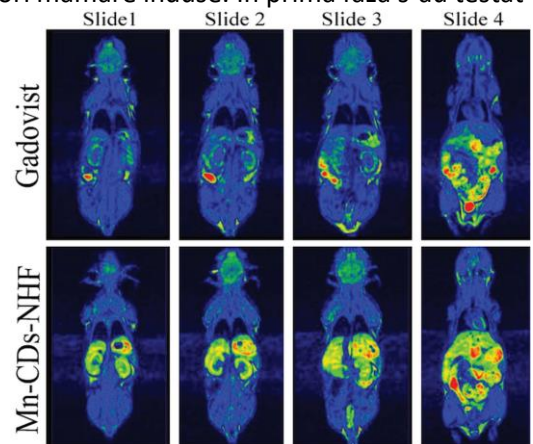


Figura 13 Imagini comparative RMN ale șoarecilor sănătoși Gadovist și Mn-CDs-NHF

relativ la agentul comercial Gadovist, este de asemenea esențial să observăm că, în comparație cu grupul de control (Figura 13_Gadovist), volumul tumorilor primare este redus în Mn-Grup tratat cu CD-NHF (Figura 13_Mn-CD-uri-NHF) așa cum este rezumat în Figura 13. Aceste date demonstrează că agentul teranostic propus Mn-CDs-NHF îndeplinește în același timp rolul de a crește contrastul RMN, precum și caracteristicile antitumorale. Deoarece metastazele pulmonare sunt foarte frecvente în cazul modelului tumoral 4T1 s-a efectuat și o evaluare RMN în vederea observării metastazelor pulmonare (Figura 14). Imagistica RMN a

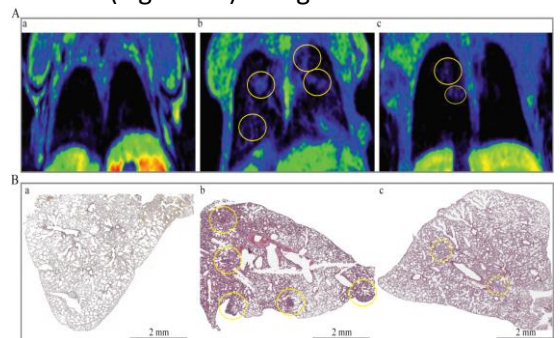


Figura 14 Investigația metastatică la nivelul plămânilor. (A). Imagini RMN, (B). Colorare HE. Imagini obținute la 20x.

cavității toracice în a treia săptămână arată țesut nou format, sugerând prezența metastazelor pulmonare (cercurile galbene indică prezența metastazelor). Conform datelor RMN, prevalența metastazelor pulmonare a fost mai mare în grupul de control (Figura 14Ab) relativ la grupul tratat cu Mn-CDs-NHF (Figura 14Ac). Aceste date se corelează cu rezultatele colorării hematoxilinei și eozinei (HE) a probelor încorporate în parafină (Figura 14b). Datele HE ale grupului tratat cu Mn-CDs-NHF arată un număr redus și dimensiunea metastazelor pulmonare și o arhitectură asemănătoare mai normală a țesutului pulmonar, cu pereți alveolari mai puțin îngroșați. În anul 2021 în cadrul lucrării publicate (doi: 10.3390/ijms22083873) rezultatele obținute prin tehnicile de IF (imunofluorescență) și/sau IHC au fost validate și prin tehnica de western blot folosind echipamente achiziționate în cadrul acestui proiect.

În concluzie, datele experimentale demonstrează proprietățile superioare ale CD-NHF-Mn²⁺ atât ca agent de contrast cât și ca efect antitumoral.

Proiect component 2

În perioada 2018-2021 în cadrul proiectului component 2 au fost realizate, caracterizate fizico-chimic și testate din punctul de vedere al activității antitumorale o serie de biocompozite pe bază de diverse materiale matrice și Carbon Dots ca ingredient bioactiv, acesta din urmă deja demonstrat pentru potențialul său antitumoral. Au fost astfel realizate: geluri pe bază de carbomer și combinații ale acestuia cu alginat de sodiu sau carboximetil celuloză încărcate cu C-Dots, hidrogeluri pe bază de guanozină – borat, nanocapsule pe baza de poli((e-caprolactona), nano/micro particule pe baza de hidroxizi dubli lamelari (LDHs) intercalați cu C-Dots și lipozomi pe baza de fosfatidil colina și colesterol încărcate cu Carbon Dots (au fost realizate și formulări complexe de tip lipozomi încărcate cu C-Dots și doxorubicină pentru testarea potențialului sinergetic al celor două tipuri de principii active). Biocompozitele preparate sub formă de geluri au fost caracterizate prin diferite tehnici de analiză precum spectroscopie Raman, spectroscopie de fluorescență, analiză EDX, teste reologice. Gelurile analizate au prezentat proprietăți și stabilități diferite în timp, dintre care Carb-F4, AS-F6, CMC-F6, respectiv BDBA-KCD5NHF s-au dovedit a fi cele mai durabile din acest punct de vedere. Au fost dezvoltate astfel formulări sub formă de gel (pe bază de carbomer și diferite polizaharide) pentru care a fost necesar studiul proprietăților reologice atât pentru gelurile simple cât și pentru cele în care au fost incluse C-Dots pentru a vedea dacă formulările mai au caracter de gel astfel încât să poată fi utilizat în aplicații topice. Comportamentul mecanic al gelurilor a fost studiat utilizând măsurători oscilante (amplitudinea, respectiv frecvența). Toate formulările analizate au prezentat caracteristici reologice de gel. Rezultatele obținute au evidențiat faptul că ambele module dinamice sunt constante cu un G' (modul de stocare) mai mare decât G'' (modul de pierdere) pe întregul domeniu de deformație de 0,01 ÷ 100%, astfel că gelurile prezintă un comportament de tip solid. Rezultatele înregistrate au evidențiat faptul că C-Dots au o influență semnificativă asupra parametrilor reologici indicând valori mai mici ale modulului dinamic (figura 15 a și b) și ale limitelor domeniului viscoelastic liniar. Testele de baleiaj de amplitudine au

permis determinarea limitelor domeniului viscoelastic liniar pentru geluri. Se poate afirma că aceste valori nu sunt afectate semnificativ de prezența C-Dots respectiv formulările pe bază de Carbomer și CMC posedă o structură mai flexibilă comparativ cu cele pe bază de AS. A fost investigată *in vitro* posibilitatea administrării Carbon Dots prin încorporarea lor în diferite tipuri de geluri în scopul stabilizării C-Dots prevenind formarea aglomeratelor. CD-NHF (Carbon-Dots sintetizați prin piroliza N-Hidroxifthalimidei) incluși în cele 3 tipuri diferite de geluri. Activitatea de proliferare a liniilor celulare tumorale de melanom uman și murin nu a fost afectată de prezența gelurilor simple (Fig.17a), în timp ce gelurile încărcate cu CD-NHF au redus semnificativ viabilitatea celulară (Fig.17 b,c).

Testele de baleiaj de amplitudine au permis determinarea limitelor domeniului viscoelastic liniar pentru geluri. Se poate afirma că aceste valori nu sunt afectate semnificativ de prezența CDots respectiv formulările pe baza de Carbomer și CMC posedă o structură mai flexibilă comparativ cu cele pe bază de AS. În sistemul 3D s-a constatat că gelurile încărcate cu CD-NHF prezintă capacitatea de a reduce numărul, dimensiunea și organizarea celulară a sferoizilor, având, de asemenea, un impact semnificativ asupra capacității individuale a celulelor tumorale de a prolifera și a forma sferoizi/tumosfere. Rezultatele obținute indică faptul că gelurile încărcate cu CD-NHF prezintă activități de modulare celulară complexe și interesante, relevante pentru controlul tumoral cu potențiale aplicații clinice.

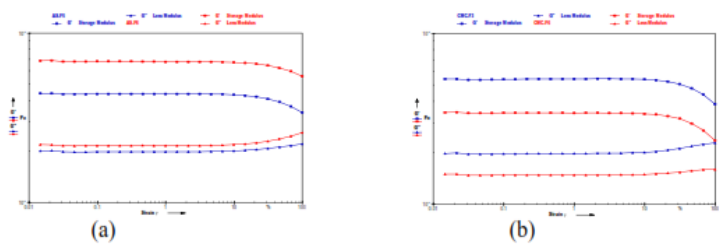


Figura 15. Baleiaj de amplitudine pentru (a) AS-F5 ; AS-F6 și (b) CMC-F3 ; CMC-F6

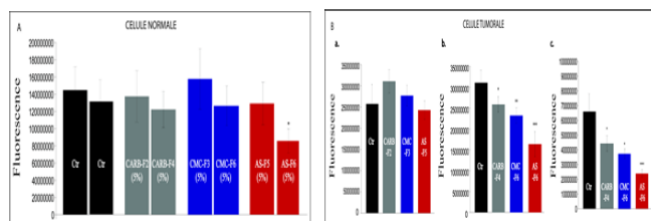


Figura 16. Viabilitatea celulelor normale dermale vs tumorale dermale. **A.** Viabilitatea celulelor normale dermale cu geluri simple și încărcate cu CD-NHF. **B.** Melanom malign murin și uman (a) geluri simple; (b,c) geluri încărcate cu CD-NHF (conc. 5%). (a) Melanom; (b) Melanom murin (B16F10); (c) melanom uman (A375); Ctr (Control)*** p = 0.0003, **p = 0.01, *p = 0.04

Rezultate foarte interesante au fost obținute la analiza efectului antitumoral în cazul formulărilor pe bază de lipozomi și Carbon Dots. Astfel, lipozomii încărcăți atât cu Carbon Dots cât și cu Doxorubicina (LPs-CDNHF-DOX) au prezentat o activitate antitumorală similară cu cea a lipozomilor încărcăți doar cu Doxorubicina (LPs-DOX) ceea ce sugerează că administrarea lor concomitentă în același lipozom favorizează interacții fizice ce anulează efectul Carbon Dots. În schimb atunci când s-a realizat administrarea aceluiași doze de Carbon Dots incluși în lipozomi concomitent cu administrarea dozei scăzute de Doxorubicina neîncapsulată în lipozomi a avut un efect dramatic asupra viabilității celulelor tumorale.

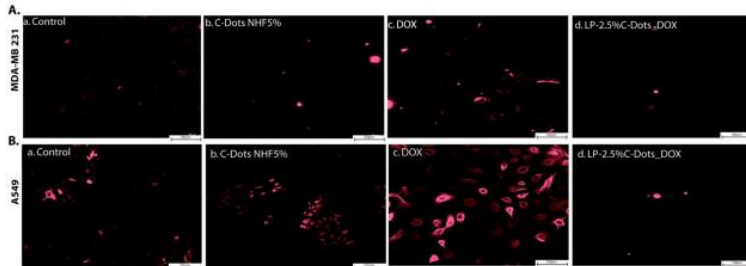


Figura 17. Nivelul de expresie a pAkt (1,2,3). A. MDA-MB231 cells; B. A549 cells; Aa-Ba Netratate; Ab-Bb Tratate cu CD-NHF neincapsulati; Ac-Bc Tratate cu doxorubicina; Ad-Bd Tratate cu CD-NHF 2.5% incapsulati si doxorubicina neincapsulată.

Formulările selectate de lipozomi au fost analizate prin imunofluorescență pentru a investiga căile metabolice implicate în medierea acestor efecte (figura 17). Toate aceste rezultate indică faptul că administrarea potențială a CD-NHF încapsulați în lipozomi împreună cu terapii deja consacrate (doxorubicina) poate diminua efectele secundare ale chimioterapeuticelor prin reducerea concentrațiilor și a fenomenelor de rezistență la medicamente. Testele de fluorescență realizate au evidențiat faptul că lipozomii fără încărcătură nu au emisie fluorescentă în comparație cu CDs-NHF și cu lipozomii încărcăți. În cazul CDs-NHF intensitatea maximă a fost observată la 447 nm în timp ce pentru LPs-CDs-NHF și LPs-CDs-NHF-DOX intensitatea maximă a fost determinată la 408 nm, respectiv 405 nm (tabelul 2 și figura 25). Aceste rezultate indică faptul că emisia fluorescentă a lipozomilor încărcăți cu CDs-NHF scade cu aprox.50%. Acest fenomen poate fi cauzat de membrana fosfolipidică care interferă și blochează emisia luminii albastre. Microfotografiile TEM înregistrate (Figura 18) confirmă faptul că CDs au fost incluși în LPs care la rândul lor deși sunt elastici și au fost supuși unor procese de extrudere și-au pastrat forma sferică.

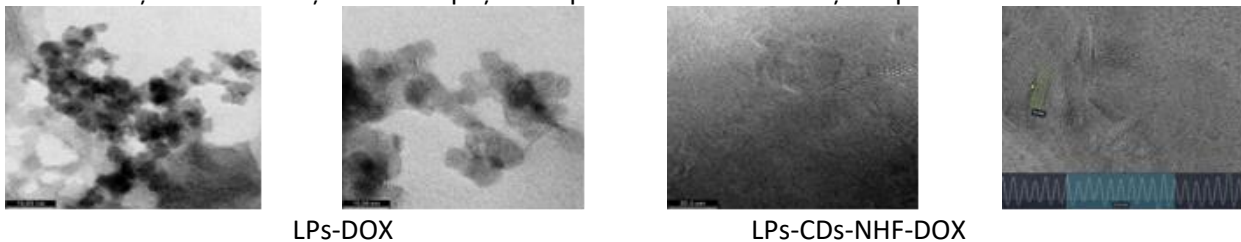


Figura 18. Imagini HR-TEM pentru formulări pe bază de lipozomi

Tot în cadrul proiectului component 2 au fost realizate studii privind obținerea unor sisteme nanoparticulate de tip biocompozit dar care în afara proprietăților de biocompatibilitate să posede și proprietăți mucoadezive pentru a putea fi utilizate în administrarea inhalatorie în cazul cancerului pulmonar. S-a pornit de la ideea de a utiliza un material pe bază de polizaharide întrucât acestea posedă oarecare proprietăți de mucoadezivitate ce ar putea fi și mai mult îmbunătățite prin introducerea de grupe tiolice în structura polimerilor. Materialele utilizate în acest scop sunt chitosanul și beta-ciclodextrina acestea fiind alese întrucât se pretează la reacții de tip tiol-enă după modificarea acestora în prealabil. Aceasta reacție are scopul de reticulare a celor două componente asigurând astfel stabilitatea materialului nou obținut fără utilizarea unui agent de reticulare suplimentar care ar putea aduce o oarecare toxicitate. S-a reușit tiolarea chitosanului prin reacția acestuia cu clorhidratul de homocisteină tiolactonă obținându-se un chitosan cu o solubilitate mult îmbunătățită în sensul în care chitosanul a devenit solubil în apa distilată fără a mai fi nevoie de acidifierea acestuia. Nanoparticulele rezultate au dimensiunea medie de ~ 150 nm și o polidispersitate relativ îngustă.

Rezultatele obținute au condus la concluzia că s-au preparat cu succes diferite formulări stabile de LPs încărcate cu diferite principii active prin metoda de evaporării în fază inversă. În urma rezultatelor diferitelor tipuri de caracterizări formulările de lipozomii optimi au fost selectați pentru evaluarea in vitro de către partenerul P2. Rezultatele in vitro obținute (activitatea 2.1, proiect component 1) au evidențiat faptul că sistemul LP-CDs-NHF posedă activități de modulare celulară complexe și interesante, relevante pentru controlul cancerului și, de asemenea, potențial pentru aplicarea clinică.

Proiect component 3

În perioada 2018 – 2021, P3 a fost implicat într-o serie de activități în cadrul proiectului component 3 privind (i) realizarea schemei de principiu a minireactorului de procesare pirolitică și a sistemelor anexe; (ii) stabilirea unui protocol pentru obținerea de compozite pe bază de carbon dots (CDs) cu eficacitate maximă, (iii) evaluarea unor soluții tehnice de separare, selecție dimensională și obținere în stare uscată a CDs, (iv) evaluarea unor soluții tehnice privind dispersia primară a masei de reacție și a impactului asupra caracteristicilor fizico-chimice ale CDs, precum și (v) testarea și validarea metodei de preparare și a soluțiilor tehnice alese pentru obținerea CDs imidici utilizabili ca platforme teranostice antitumorale. În cadrul activităților desfășurate, s-a elaborat și testat un protocol de obținere a unui compozit magnetic pe bază de CDs, derivați din n-hidroxiftalimidă, și nanoparticule magnetice. Protocolul permite obținerea cu randament de aproape 100 % a unor nanostructuri de carbon magnetice. S-a dezvoltat o metoda de obținere în stare uscată a CDs printr-o metoda sol-gel modificată, având la baza protocolul realizat în cadrul Pr. 3, nanostructurile de carbon fiind rezultatul unui proces pirolitic inițiat la 250°C. Dispersia primară a produsilor de reacție s-a realizat eficient printr-un proces de ultrasonicare, precedat de mojarare. S-a determinat ca operațiile de ultrasonicare și sterilizare (cerute de interacțiunea cu culturile celulare) influențează favorabil unele caracteristici fizico-chimice ale CDs. De asemenea, în cadrul proiectului component Pr. 3, a fost proiectată, realizată și testată la scară micro-pilot o stație de autoclavare pentru sinteza CDs imidici la presiuni și temperaturi înalte (Fig. 1a). În final, în cadrul proiectului component Pr. 3, INCDFT-IFT Iași a proiectat, realizat și testat un echipament automatizat pentru sinteza nanostructurilor de tip CDs (Fig. 19b) a cărui proprietate intelectuală este acoperită prin brevetare.

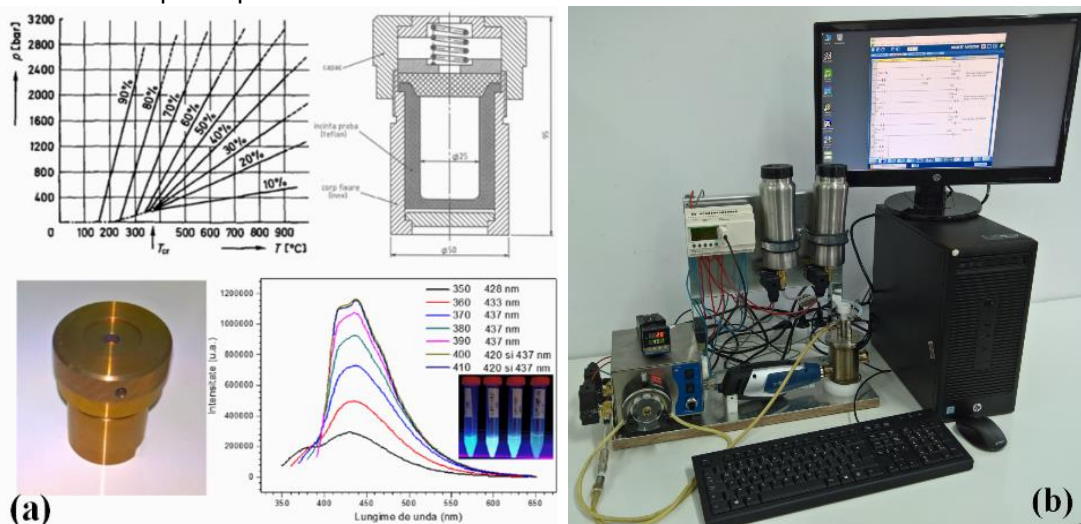


Fig. 19. (a) Autoclav pentru sinteza CDs imidici la presiuni și temperaturi înalte; (b) echipament automatizat pentru sinteza nanostructurilor de tip CDs la temperaturi înalte și presiune atmosferică

În urma evaluării acțiunii antitumorale pe culturi celulare tumorale (osteosarcom uman) și celule normale (fibroblaști derivați din piele umană), s-a concluzionat că CDs derivați din N-hidroxiftalimidă au un efect antitumoral statistic semnificativ pe cultura de osteosarcom, păstrând viabilitatea fibroblaștilor în limite normale. Rezultatele au arătat ca CDs realizați prin această metodă au prezentat o activitate antitumorală cu cel puțin un ordin de mărime mai crescută decât N-hidroxiftalimida nemodificată. În plus, structura carbonică a permis legarea eficientă la suprafața sa a unui antitumoral de uz clinic, mitoxantrona, amplificându-se semnificativ acțiunea biologică antitumorală a acestuia.

Evaluarea reproductibilității procesului fizic de obținere a CDs la scară pilot a presupus utilizarea de *N-hidroxisuccinimida*, ca precursor imidic, și *Paclitaxel*, un antitumoral utilizat în tratamentul cancerului. Paclitaxelul, comercializat sub denumirea de Taxol, este un antitumoral natural cu hidrofobitate înaltă, fiind, prin urmare, greu solubil în medii apoase, inclusiv în mediul sangvin. Prin tratarea termică a acestuia împreună cu o moleculă suport (N-Hidroxi-succinimida) s-a dorit transformarea în CDs hidrofilii care să păstreze caracteristicile antitumorale inițiale ale substanței antitumorale (Taxol). În urma tratamentelor termice preliminare, efectuate separat pentru fiecare precursor, s-a observat că N-hidroxisuccinimida se

transformă cu ușurință în CDs, formând împreună cu mediul de dispersie o structură de tip gel care se solidifică la temperatura camerei. Pe de altă parte, tratamentul termic separat al Taxolului conduce la structuri cu dimensiuni foarte mari care nu pot fi utilizate *in vivo*. Totuși, s-a observat că CDs derivați din Taxol pot fi sintetizați și distribuiți omogen în structura de tip gel a N-hidroxisuccinimidei dacă tratamentul termic este aplicat simultan celor doi precursori amestecați și dizolvați în prealabil în etanol. Practic, prin distribuția moleculelor de Taxol în matrice de n-hidroxisuccinimidă, se împiedică formarea de conglomerate mari de CDs derivați, în principal, din Taxol în timpul procesului de transformare termică a acestuia. Pentru evaluarea reproductibilității procesului fizic de obținere a CDs la scară pilot s-a utilizat următorul protocol: N-hidroxisuccinimida (cca. 900 mg) și Taxol (cca. 29 mg) au fost dizolvate împreună în 3 ml alcool etilic (98 %) și ultrasonate 3 min. Pentru asigurarea celei mai bune calități a precursorilor, proba ultrasonată a fost filtrată printr-un filtru cu dimensiunea porilor de 220 nm, iar apoi a fost introdusă în instalația automatizată pentru sinteza de nanostructuri de carbon la scară pilot, obținută în etapa anterioară a proiectului. Tratamentul termic a fost realizat la 200°C timp de 40 min. Imediat după oprirea încălzirii proba a fost racită rapid cu apă ultrapură și colectată din reactorul de reacție. Procedul s-a repetat în mod identic pentru încă două probe. Probele au fost măsurate cantitativ (Tabelul 1) pentru a evalua pierderile de masă rezultate în urma procesului de ardere. S-a observat că, în medie, pierderea de masă a fost de cca 21%. Deviația standard între cele trei probe a fost de $\pm 12,48$, ceea ce s-ar putea traduce, raportat la valoarea masică medie, ca o variație procentuală medie de cca 1,7% sau, dacă luăm în considerare deviația medie, atunci variația procentuală medie a masei obținute ar fi de cca. 1,25%. În concluzie, din punct de vedere al maselor de reacție obținute prin ardere, **procesul de sinteză a arătat o foarte bună reproductibilitate**. În plus, randamentul reacției (79%) a fost unul bun. Conform datelor rezultate din măsurătorile DLS, procesul de sinteză al CDs a fost înalt reproductibil din punct de vedere dimensional. Astfel, probele au arătat valori foarte apropiate între dimensiunile medii ale nanoparticulelor, deviația standard fiind de $\pm 3,51$. De asemenea, distribuțiile după marimi au fost apropiate, domeniile de dimensiuni fiind cuprinse între 60÷240 nm (Proba P1), 36÷290 nm (Proba P2) și 43÷290 nm (Proba P3).

Evaluarea reproductibilității efectelor antitumorale induse de cele trei probe s-a realizat utilizând o linie celulară de osteosarcom uman (OS). Influența CDs asupra viabilității celulare a fost cuantificată prin testul MTT. Rezultatele testelor de viabilitate (Figura 20) au arătat că **efectele antitumorale ale CDs** produse de proba P1 (viabilitate 87,32%, conc. 0,12 mg/ml) **au fost reproduse cu mare acuratețe** de probele P2 (viabilitate 85,87%; conc. 0,2 mg/ml) și P3 (viabilitate 88,18%; conc. 0,12 mg/ml), deviația standard, SD, fiind foarte scăzută ($\pm 1,17$). Aceeași reproductibilitate foarte înaltă s-a observat și pentru cea de a doua concentrație (0,24 mg/ml), deviația standard fiind, de asemenea, foarte scăzută ($\pm 1,37$). În Figura 11 sunt prezentate graficele de viabilitate ale celulelor tumorale pentru cele trei probe în funcție de cele două concentrații de CDs testate. Se poate observa că, o dată cu dublarea concentrației de CDs, viabilitatea celulară a scăzut în medie cu 9%. Efectul anti-tumoral al CDs derivați din n-hidroxisuccinimidă și Taxol este cel mai probabil rezultatul efectelor anti-proliferative ale grupelor funcționale rămase parțial stabile după transformarea termică a precursorilor. Pe de altă parte, CDs obținuți sunt hidrofilii, distribuindu-se foarte bine în soluții apoase, spre deosebire de Taxol nemodificat care este puternic hidrofob. Prin urmare, compușii de tip CDs obținuți se pot dispersa foarte bine în mediul sanguin, putând fi astfel transportați eficient în toate zonele din organism afectate de tumori sau marcate de un potențial tumorigen crescut.

Prin urmare, metoda rezultată de obținere a nanostructurilor de tip carbon dots s-a dovedit a fi înalt reproductibilă, atât din punct de vedere cantitativ, cât și calitativ, fapt dovedit inclusiv prin testele de viabilitate celulară efectuate pe o linie tumorală umană. Sinteza efectuată la scară pilot are, de asemenea, avantajul unei eficiențe crescute, este simplă, controlabilă prin ajustarea temperaturii de lucru, fiind ușor de realizat. Protocolul utilizat la scară pilot, a CDs cu un randament de 79%, metoda fiind foarte versatilă și susceptibilă la modificări în ceea ce privește compoziția finală a produșilor de reacție. Efectele antitumorale ale CDs sintetizați au fost înalt reproductibile.



Figura 20. Viabilitatea celulelor tumorale in functie de cele doua concentratii ale probelor testate.

3. Agenda comună (Livrabile/indicatori)

Nr. crt.	Titlul proiectului Pn	Instituții partenere	Obiective planificate	Livrabile/indicatori planificati (conform Agendei comune)	Obiective realizate	Livrabile/indicatori realizati
1	Proiect 1 «Nanostructuri de tip Carbon Dots preparate din derivati imidici, cu aplicatii in imagistica medicala si terapeutica antitumorală»	IC – TUIASI P1 – ICMPP P2 – IRO P3 – IFT	1. Stabilirea cadrului operațional / științific de derulare proiect și a condițiilor experimentale de preparare Carbon Dots imidici 2. Obținerea de Carbon Dots imidici ca agenți antitumorali cu acțiune selectivă și toxicitate redusă 3. Extinderea studiilor în vederea obținerii unor platforme teranostice antitumorale pe bază de amestecuri Carbon Dots imidici și complecși Carbon Dots – Gd3+	- 4 lucrări științifice publicate în reviste ISI internaționale - 1 cerere brevet de invenție internațional - 1 cerere de brevet invenție național - Rețetă și metodă de preparare Carbon Dots imidici biocompatibili - Rețetă și metodă de preparare complecși Carbon Dots-Gd 3+ - Rețetă și metodă de preparare platforme teranostice antitumorale pe bază de Carbon Dots imidici - Protocol de testare și cuantificare prin IHC sau IF acțiune terapeutică a platformelor teranostice antitumorale pe baza de Carbon Dots imidici - Fișe de produs cu recomandări de utilizare - Platforme teranostice antitumorale pe bază de Carbon Dots imidici 3+ - Complecși Carbon Dots-Gd pentru bioimagistica RMN	1. Stabilirea cadrului operațional / științific de derulare proiect și a condițiilor experimentale de preparare Carbon Dots imidici 2. Obținerea de Carbon Dots imidici ca agenți antitumorali cu acțiune selectivă și toxicitate redusă 3. Extinderea studiilor în vederea obținerii unor platforme teranostice antitumorale pe bază de amestecuri Carbon Dots imidici și complecși Carbon Dots – Gd3+	- 6 lucrări științifice publicate în reviste ISI internaționale - 1 cerere brevet de invenție internațional - 1 cerere de brevet invenție național - Rețetă și metodă de preparare Carbon Dots imidici biocompatibili - Rețetă și metodă de preparare complecși Carbon Dots-Gd3+ - Rețetă și metodă de preparare platforme teranostice antitumorale pe bază de Carbon Dots imidici - Protocol de testare și cuantificare prin IHC sau IF acțiune terapeutică a platformelor teranostice antitumorale pe baza de Carbon Dots imidici - Fișe de produs cu recomandări de utilizare - Platforme teranostice antitumorale pe bază de Carbon Dots imidici - Carbon Dots-Mn pentru bioimagistica RMN si tratament anti-tumoral

2	Proiect 2 «Biocompozite macromoleculare pe baza de carbon dots cu aplicatii in diagnosticarea, monitorizarea si tratamentul unor forme de cancer»	IC – ICMPP	1. Obținerea unor biocompozite teranostice sub formă de geluri cu acțiune antitumorală, pe bază de Carbon Dots 2. Obținerea unor biocompozite teranostice nano particulate, cu acțiune anti tumorală, pe bază de Carbon Dots	- 3 lucrări științifice publicate în reviste cotate ISI - 2 cereri de brevet invenție național - Rețetă și metodă de preparare biocompozite antitumorale cu Carbon Dots imidici sub formă de gel - Rețetă și metodă de preparare biocompozite teranostice antitumorale nano/micro particulate cu Carbon Dots imidici - Protocol de testare și cuantificare prin IHC sau IF acțiune terapeutică biocompozite teranostice antitumorale pe bază de Carbon Dots imidici - Fișe de produs cu recomandări de utilizare - geluri biocompozite antitumorale cu Carbon Dots imidici - biocompozite teranostice antitumorale nano/microparticulate cu Carbon Dots imidici	Obținerea unor biocompozite teranostice sub formă de geluri cu acțiune antitumorală, pe bază de Carbon Dots Obținerea unor biocompozite teranostice nano particulate, cu acțiune anti tumorală, pe bază de Carbon Dots	- 6 lucrări științifice publicate în reviste cotate ISI - 2 cereri de brevet invenție național - Rețetă și metodă de preparare biocompozite antitumorale cu Carbon Dots imidici sub formă de gel - Rețetă și metodă de preparare biocompozite teranostice antitumorale nano/micro particulate cu Carbon Dots imidici - Protocol de testare și cuantificare prin IHC sau IF acțiune terapeutică biocompozite teranostice antitumorale pe bază de Carbon Dots imidici - Fișe de produs cu recomandări de utilizare - geluri biocompozite antitumorale cu Carbon Dots imidici - biocompozite teranostice antitumorale nano/microparticulate cu Carbon Dots imidici
		P1 – TUIASI				
		P2 – IRO				
		P3 – IFT				
3	Proiect 3 «Procedeu de sinteza la scara pilot a nanostructurilor de tip Carbon Dots pentru aplicatii medicale»	IC – IFT	1.Elaborarea unui procedeu de obtinere la scara pilot a CDs 2.Elaborarea unui proiect de instalatie	- 1 lucrare științifică publicată în reviste ISI internaționale - 1 cerere de brevet invenție național - 1 certificat de înregistrare a proiectului instalației la scară pilot	1. Elaborarea a doua procedee de obtinere la scara pilot a CDs 2. Elaborarea unui proiect de instalatie	- 1 lucrare științifică publicată în reviste ISI internaționale - 1 procedeu de obținere la scară pilot a Carbon Dots imidici cu aplicații medicale - 1 instalație de obținere la scară
		P1 – TUIASI				
		P2 – ICMPP				
		P3 – IRO				

			<p>pentru prepararea de CDs imidici pentru aplicatii medicale</p> <p>3. Realizarea unei instalatii pilot de preparare de CDs imidici pentru aplicatii medicale</p>	<p>- 1 procedeu de obținere la scară pilot a Carbon Dots imidici cu aplicații medicale</p> <p>- 1 instalație de obținere la scară pilot cu parametri de proces automatizați și monitorizare a Carbon Dots imidici cu aplicații medicale</p>	<p>pentru prepararea de CDs imidici pentru aplicatii medicale</p> <p>3. Realizarea a doua instalatii pilot de preparare de CDs imidici pentru aplicatii medicale</p>	<p>pilot cu parametri de proces automatizați și monitorizare a Carbon Dots imidici cu aplicații medicale</p> <p>-1 Cerere brevet Inventie inregistrata OSIM</p>
--	--	--	--	---	--	---

4. Detalii privind exploatarea si diseminarea rezultatelor la nivelul proiectului complex (max. 3 pag.)

Articole ISI publicate (acceptate)/trimise spre publicare:

- [1] Corneliu S. Stan*, Adina Coroaba, Elena Laura Ursu, Marius Sebastian Secula, Bogdan C. Simionescu, Fe(III) doped carbon nanodots with intense green photoluminescence and dispersion medium dependent emission, *Nature - Scientific Reports*, 9, Article number: 18893, 2019, DOI: 10.1038/s41598-019-55264-x.
- [2] Crina Elena Tiron, Gabriel Luta, Mihail Butura, Florin Zugun-Eloae, Corneliu S. Stan, Adina Coroaba, Elena-Laura Ursu, Gabriela Dumitrita Stanciu, Adrian Tiron, NHF-derived carbon dots: prevalidation approach in breast cancer treatment, *Nature - Scientific Reports*, 2020, 10, Article number: 12662, DOI:10.1038/s41598-020-69670-z.
- [3] Corina-Lenuta Savin, Crina Tiron, Eugen Carasevici, Corneliu S. Stan, Sorin Alexandru Ibanescu, Bogdan C. Simionescu, Catalina A. Peptu*, Entrapment of N-Hydroxyphthalimide Carbon Dots in Different Topical Gel Formulations: New Composites with Anticancer Activity, *Pharmaceutics*. 2019 Jul; 11(7): 303, DOI: 10.3390/pharmaceutics11070303.
- [4] Sorin Ibanescu, Marcel Danu, Bogdana Simionescu, Constanta Ibanescu, Dynamic rheological behavior of chitosan/collagen mixtures, *Revista de Chimie*, 71 (5), 2020, 193-200, doi.org/10.37358/Rev.Chim.1949.
- [5] Maricel Danu, Angela Danila, Sorin-Alexandru Ibanescu, Carmen Zaharia, Emil Ioan Muresan, Alina Popescu, Vlad Rotaru, Stability study and rheological behavior of oil/water lavender emulsions with potential application in skin care products, *Industrial Crops and Products*, 2019, accepted.
- [6] Adrian Borhan, Dumitru-Daniel Herea, Daniel Gherca, Cristina Stavila, Anca-Emanuela Minuti, Marian Grigoras, Camelia Mihaela Danceanu, Luminita Labusca, George Stoian, Gabriel Ababei, Corneliu Stan, Nicoleta Lupu, Horia Chiriac, Flash-cooling assisted sol-gel self-ignited synthesis of magnetic carbon dots-based heterostructure with antitumor properties, *Materials Science & Engineering C*, 2020, 117, Articol 111288, DOI:10.1016/j.msec.2020.111288.
- [7] Luta G, Butura M, Tiron A, Tiron CE. Enhancing Anti-Tumoral Potential of CD-NHF by Modulating PI3K/Akt Axis in U87 Ex Vivo Glioma Model. *Int J Mol Sci*. 22(8): 3873, 2021, doi: 10.3390/ijms22083873
- [8] Angela Danila, Emil Ioan Muresan, Sorin-Alexandru Ibanescu, Alina Popescu, Maricel Danu*, Carmen Zaharia, Gizem Ceylan Türkoglu, Gokhan Erkan, Adela-Ioana Staras, Preparation, characterization, and

application of polysaccharide-based emulsions incorporated with lavender essential oil for skin-friendly cellulosic support, *International Journal of Biological Macromolecules* 191, pp.405–413, 2021.

[9] Tudor Vasiliu, Bogdan Florin Florin Craciun, Andrei Neamtu, Lilia Clima, Dragos Lucian Isac, Stelian Maier, Mariana Pinteala, Francesca Mocci and Aatto Laaksonen, *In silico study of PEI-PEG-squalene-dsDNA polyplex formation: The delicate role of PEG length to the binding of PEI to DNA*, *Biomater. Sci.*, 2021, publicata

[10] Diana-Andreea Blaj, Mihaela Balan-Porcarasu, Brindusa Alina Petre, Valeria Harabagiu, Cristian Peptu, MALDI mass spectrometry monitoring of cyclodextrin-oligolactide derivatives synthesis, *Polymer* 124186, 2021 (accepted).

[11] Corina-Lenuta Savin (Logigan), Corneliu S. Stan, Bogdan Simionescu, Constanta Ibanescu, Catalina A. Peptu*, Adrian Tiron, Gabriel Luta, Mihail Butura, Crina Elena Tiron*, Mariana Pinteala, Daniel Herea, *Carbon Dots/Doxorubicin Loaded Liposomes as Complex Synergetic Nano Delivery System for Antitumor Applications* (submitted Elsevier - Biomedical Journal)

[12] Adrian Tiron, Corneliu S. Stan, Gabriel Luta, Cristina Mariana Uritu, Irina-Cezara Vacarean-Trandafir, Gabriela Dumitrita Stanciu, Adina Coroaba and Crina Elena Tiron. *Manganese doped N-Hydroxyphthalimide derived Carbon Dots – Theranostics applications in experimental breast cancer models*. Submisa in *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. (submitted NANOMED-S-21-00977)

Lucrari BDI:

[1] Crina Tiron, Florin E. Zugun, Catalina A. Peptu, Corneliu S. Stan, Adrian Tiron*, *Imide derived Carbon Dots – A New Promising Approach in Cancer Treatment*, *Nano Sci Nano Tech Ind J*, 2019.

[2] Iolanda Fusteş-Dămoc, Cătălina Anișoara Peptu, Teodor Măluțan, “Thiolated chitosan for medical applications”, *Buletinul Institutului Politehnic Iași, Universitatea Tehnică “Gheorghe Asachi”*. În curs de publicare.

Cereri de brevete naționale înregistrate O.S.I.M.:

[1] Corneliu S. Stan, Petronela Horlescu, Bogdan C. Simionescu, Catalina A. Peptu, Sorin Ibanescu, *Compuși coordinați ai Gd(III) și Mn(II) utilizabili ca precursori de obținere a nanostructurilor de tip „Carbon Dots”*, A/00704/21.09.2018.

[2] Corneliu S. Stan, Marius Sebastian Secula, Adina Coroaba, Bogdan C. Simionescu, *Hidrogel fluorescent pe bază de nanostructuri de carbon pentru protecția la radiații UV solare*, A/00751/15.11.2019.

[3] Corneliu S. Stan, Marius Sebastian Secula, Bogdan C. Simionescu, *Aerogel fotoluminescent higrosensibil pe bază de nanostructuri de carbon*, A/00747/15.11.2019.

[4] Herea D.D., Mihai M.M., Loiso A.V., Gherca D., Borhan A.I. and Lupu N., *Instalație automatizată pentru sinteza de nanostructuri de carbon din compuși imidici pentru aplicații biomedicale*, nr. înregistrare OSIM a 2021 00309 / 03.06.2021.

Cerere de brevet internațional înregistrată E.P.O.:

[1] Corneliu S. Stan, Marius S. Secula, *Manganese-Doped Nanostructured Carbon Dots with Applications in Antitumoral Treatments and Medical Imaging*, EP20464012/15.102020

Participări la conferințe

[1] Adina Coroaba, Gabriela Pricope, Bogdan Craciun, Anca E. Chiriac, Mariana Pinteala, *Non-invasive techniques for the investigation of dermatological diseases*, *First Balkan Conference on Medical Mycology and Mycotoxicology, Balkan Fungus 2018*, 13-15 Septembrie 2018, Timisoara, Romania.

[2] Cornel S. Stan, Iolanda Fustes-Damoc, Constanta Ibanescu, Bogdan C. Simionescu, *Photoemissive Cryogels with Tunable Porosity Obtained Through Embedding Carbon Dots in Poly(2-hydroxyethylmethacrylate)*, *The 2nd International Conference on Composite Materials Science and Technology (ICCMST 2019)*, 22-25 Mai 2019, Tokyo, Japonia.

- [3] Iolanda Fustes-Damoc, Corneliu S. Stan, Bogdan C. Simionescu, Photonic Conversion Mediums Based on Imide Derived Carbon Dots in Polymer Matrices, The 2nd International Conference on Composite Materials Science and Technology (ICCMST 2019), 22-25 Mai 2019, Tokyo, Japonia.
- [4] Corina L. Savin, Corneliu S. Stan, Crina E. Tiron, Dumitru-Daniel Herea, Bogdan C. Simionescu, Catalina A. Peptu, Carbon dots in Liposomes New Approach in Cancer Therapy, The 2nd International Conference on Composite Materials Science and Technology (ICCMST 2019), 22-25 Mai 2019, Tokyo, Japonia.
- [5] Corina Lenuta Savin, Catalina Anisoara Peptu, Corneliu Sergiu Stan, Constanta Ibanescu, Bogdan - Simionescu, Crina Elena Tiron, Carbon Dots Embedded in A Carbomer Gel: A Novel Composite with Antitumoral Activity, The 2nd International Conference on Composite Materials Science and Technology (ICCMST 2019), 22-25 Mai 2019, Tokyo, Japonia.
- [6] Gabriel Luta, Crina Tiron, Corneliu S. Stan, Adrian Tiron, Catalina A. Peptu, Florin E. Zugun, Bogdan C. Simionescu, Imide derived Carbon Dots – a new Promising Approach in Cancer Treatment, Conferinta Internationala Anuala a Societatii Romane de Biochimie si Biologie Moleculara, 25-27 Septembrie 2019, Iasi. Diploma pentru cel mai bun poster.
- [7] Mihail Butura, Corina-Lenuta Savin, Crina Tiron, Eugen Carasevici, Corneliu S. Stan, Sorin Alexandru Ibanescu, Bogdan C. Simionescu, Adrian Tiron, Catalina A. Peptu, Entrapment of N-Hydroxyphthalimide Carbon Dots in Different Topical Gel Formulations: New Composites with Anticancer Activity, Conferinta Internationala Anuala a Societatii Romane de Biochimie si Biologie Moleculara, 25-27 Septembrie 2019, Iasi.
- [8] Gabriel Luta, Mihail Butura, Adrian Tiron, Florin E. Zugun, Corneliu S. Stan, Crina E. Tiron, Carbon Dots derivati din N-hidroxifalimida – studiu preclinic in cancerul mamar, Conferinta Internationala CONFER, Iasi, 21-23 Noiembrie 2019.
- [9] Mihail Butura, Catalina A. Peptu, Corina Savin, Corneliu S. Stan, Adrian Tiron, Florin E. Zugun, Crina E. Tiron, Imbunatatirea efectului antitumoral al nanostructurilor de carbon NHF (CD-NHF) incarcate in lipozomi. Conferinta Internationala CONFER, Iasi, 21-23 Noiembrie 2019.
- [10] Iolanda Fusteş-Dămoc, Cătălina Anișoara Peptu, Cristian Peptu, Teodor Măluțan, "Thiolated chitosan for biomedical applications", 5th International Conference on Chemical Engineering - "Innovative Materials and Processes for a Sustainable Development", "Cristofor Simionescu" Faculty of Chemical Engineering and Environmental Protection, "Gheorghe Asachi" Technical University, October 28 – 30, 2020, Iași, România.
- [11] Iolanda Fusteş-Dămoc, Corina-Lenuța Savin, Crina Tiron, Corneliu S. Stan, Constanța Ibănescu, Bogdan C. Simionescu, Catalina A. Peptu, "Carbon Dots loaded liposomes for antitumoral applications", International Congress of „Apollonia” University from Iași, Edition XXX 27th of February – 1st of March 2020, IAȘI, Romania
- [12] Gabriel Luta, Mihail Butura, Adrian Tiron, Florin E. Zugun, Crina E. Tiron, Potentarea proprietatilor antitumorale ale CD-NHF de catre inhibitorii K252A, AktVIII in linia celulara de gliom U87, Conferinta Internationala CONFER, organizata de Institutul Regional de Oncologie Iasi, acceptat pentru prezentare în perioada 19-22 Noiembrie 2020.
- [13] Mihail Butura, Gabriel Luta, Adrian Tiron, Florin E. Zugun, Crina E. Tiron, Cai moleculare modulate de catre CD-NHF si inhibitorii K252A, AktVIII in linia celulara de gliom U87, Conferinta Internationala CONFER, organizata de Institutul Regional de Oncologie Iasi, acceptat pentru prezentare în perioada 19-22 Noiembrie 2020.
- [14] A. Coroaba, G. Pricope, B. Craciun, A. E. Chiriac, M. Pinteala, Non-invasive techniques for the investigation of dermatological diseases, First Balkan Conference on Medical Mycology and Mycotoxicology, - Balkan Fungus 2018, 13-15 Septembrie 2018, Timisoara, Romania.

Capitol carte

- [1] A Microbiological Epilogue - Nosocomial Infections, Irina Rosca Email, Elena-Laura Ursu, Adrian Fifere in New Trends in Macromolecular and Supramolecular Chemistry for Biological Applications, Marc Abadie, Mariana Pinteala, Alexandru Rotaru (Eds.), pp 179-189, 2021, Springer

5. Detalierea Programului comun de CDI, cu evidentierea modului de colaborare ulterioara între parteneri și atragerea de noi fonduri nationale/internationale. (max. 3 pag.)

Programul Comun de Cercetare-Dezvoltare-Inovare conține o serie de direcții care au fost abordate în cadrul prezentului proiect de către membrii consorțiului și care vor fi prezentate în cele ce urmează:

1. Introducerea rezultatelor proiectului (produse de tip Carbon Dots și materiale avansate cu potențial aplicativ foarte ridicat în domeniul diagnosticului și tratamentului, precum și a tehnologiei pentru obținerea acestora) în circuitul economic prin colaborări cu mediul economic. O parte din rezultatele proiectului au fost valorificate prin depunerea de cereri de brevete de invenție depuse la nivel național (a) Corneliu S. Stan, Petronela Horlescu, Bogdan C. Simionescu, Cătălina A. Peptu, Sorin Ibănescu, *Compuși coordinativi ai Gd(III) și Mn(II) utilizabili ca precursori de obținere a nanostructurilor de tip „Carbon Dots”*, A/00704/21.09.2018; b) Corneliu S. Stan, Marius Sebastian Secula, Adina Coroaba, Bogdan C. Simionescu, *Hidrogel fluorescent pe baza de nanostructuri de carbon pentru protecția la radiații UV solare*, A/00751/15.11.2019; c) Corneliu S. Stan, Marius S. Secula, Bogdan C. Simionescu, *Aerogel fotoluminescent higrosensibil pe baza de nanostructuri de carbon*, A/00747/15.11.2019) și internațional (Corneliu S. Stan, Marius S. Secula, *Manganese-Doped Nanostructured Carbon Dots with Applications in Antitumoral Treatments and Medical Imaging*, EP20464012/15.10.2020).

Date fiind rezultatele remarcabile privind activitatea antitumorală/diagnoză RMN a nanostructurilor de Carbon dots imidici dopați cu Mn se intenționează valorificarea acestor brevete prin colaborări cu agenți economici și/sau alte entități naționale/internaționale care activează în domeniu în cursul anului următor în speranța că prin normalizarea situației actuale generate de pandemie vom putea iniția contacte directe cu agenții economici potențial interesați cărora trebuie să li se prezinte rezultatele cercetării implicând și instalația la scară pilot de obținere a platformelor teranostice antitumorale dezvoltate în cadrul consorțiului. Toate aceste demersuri sunt eficiente prin întâlniri directe cu reprezentanții instituțiilor și agenților economici interesați.

2. Accesarea de fonduri europene și naționale prin participarea la diferite competiții, naționale și internaționale (Horizon 2020, POC, POCU, PN III)

În cadrul competițiilor de proiecte membrii consorțiului au participat cu propuneri de proiecte din care o parte au fost chiar acceptate la finanțare. Astfel, propunerile de proiect PN-III-P2-2.1-PED-2019-3690 (*Aditivi ecologici pe bază de nanostructuri de carbon pentru noi formulări de lacuri și vopsele cu stabilitate îndelungată la radiații solare*) și PN-III-P2-2.1-PED-2019-4825 – acceptat la finanțare (*Noi materiale cu proprietăți optice pentru hârtie securizată*), ambele propuneri depuse de instituția coordonatoare a consorțiului valorifică alte potențiale aplicații ale carbon dots imidici. De asemenea, în perioada imediat următoare va fi termenul limită de depunere a propunerilor de proiecte în cadrul competiției ADR Nord EST – RIS3 unde aceeași instituție intenționează să depună proiectul cu titlul *”Platformă regională specializată în designul, prepararea și caracterizarea de formulări pe bază de materiale polimerice avansate și principii active specifice diverselor aplicații biomedicale”*.

Partenerul P1 (Institutul de Chimie Macromoleculară Petru Poni din Iași) s-a implicat, de asemenea, în depunerea de propuneri de proiecte în diverse competiții. Astfel, proiectul EEA-RO-NO-2018-0246 (*Restore Her2 dependent sensibility using AXL inhibitors packed in pH dependent nanostructures*) este un proiect depus sub coordonarea partenerului P2 (Institutul Regional de Oncologie Iași) și cu Oslo Universitetssykehus (proiectul este acum în faza de contractare). Proiectul PN-III-P1-1.1-TE-2019-0922 (*Abordare modulară a proceselor de sinteză a nanoparticulelor acoperite cu polimeri multifuncționali destinate aplicațiilor nanomedicale*), al cărui coordonator este Dr. Sorin-Alexandru Ibanescu, se află la începutul derulării sale. Proiectul PN-III-P4-ID-PCE-2020-1523 (*Versatile molecular vectors with tailored carrying and actuating abilities, dedicated to gene and drug delivery in fight against cancer*) depus de dna

Dr. Mariana Pinteala – P1 se află în plin proces de evaluare. Proiectele de mobilitate pentru cercetători cu experiență din diaspora PN-III-P1-1.1-MCD-2019-0117 Coordonator Dr. Adina Coroaba – P1 și PN-III-P1-1.1-MC-2018-0726, Coordonator Dr. Irina Rosca au fost aprobate și finalizate în 2019.

Partenerul P2 (Institutul Regional de Oncologie Iași) a participat foarte activ în competiții de proiecte atât la nivel național cât și internațional implicând în această activitate membri ai consorțiului. Astfel, proiectele internaționale depuse în perioada derulare solicitată sunt: proiect Swiss bridge Cod 7711 (*TrkB inhibition potentiates abscopal response of primary tumor irradiation*), proiect EEA-RO-NO-2018-0246 (*Restore Her2 dependent sensibility using AXL inhibitors packed in pH dependent nanostructures*) și nu în ultimul rând proiectul depus sub auspiciile Horizon 2020 - DT-NMBP-23-2020 (*Research and Innovation Framework Programme: Human Avatar Platform for in vitro Personalized High-Efficiency Cancer Biology Profiling and Treatment*). Proiectele naționale depuse în competiții depuse de partenerul P2 sunt: PN-III-P2-2.1-PED-2019-3796 (*Sistem microfluidic intelligent histo-celularizat pentru conditionare celulara, observatie si sortare*), și PN-III-P4-ID-PCE-2020-1307 (*Hiperoxia si sevofluranul administrate perioperator: promotori ai recurenței cancerului - mecanisme moleculare în model de cancer mamar triplu negativ*), acesta din urmă aflându-se încă în evaluare.

3. Încheierea de contracte de prestări de servicii cercetare atât cu alte organizații de cercetare, cât mai ales cu parteneri din mediul economic

Instituția parteneră P1 a încheiat următoarele contracte de prestări servicii cu societăți și institute din străinătate: 1. Contract prestari servicii nr. 5289/09.08.2019, între CORTHOTEC LIMITED, London, UK (companie privata) și P1, Romania, Coordonator: Dr. Mariana Pinteală - Formulation of bio-absorbable class III medical device for local drug delivery, Durata 2019-2020; 2. Contract prestări servicii nr. 4350/10.07.2020, între Universitatea de Stat din Moldova și P2, Iași, Romania, Coordonator: Dr. Mariana Pinteală - Măsurători de fluorescență, fosforescență, timp de viață, studii de toxicitate și citotoxicitate in vitro și studii de evaluare a biocompatibilității materialelor, Durata 15.07.2020-31.12.2020.

Succesul acestor acțiuni este asigurat și de alte rezultatele obținute ca urmare a implementării Proiectului Complex:

- i) transferul de produse și tehnologii, încă din faza de implementare, către parteneri economici - așa cum s-a menționat anterior acest aspect va fi rezolvat în perioada următoare date fiind condițiile nefavorabile generate de pandemia cu Sars Cov2 care au împiedicat întâlnirile directe cu agenții economici potențial interesați de producerea acestor platforme antitumorale pe bază de nanostructuri de carbon. Obiectivele proiectului privind realizarea și testarea la scară de laborator a unei stații micropilot de autoclavare pentru sinteza CDs imidici la presiuni și temperaturi înalte și a unui echipament automatizat pentru sinteza nanostructurilor de tip CDs au fost îndeplinit cu succes, rezultatele fiind în curs de brevetare.
- ii) îmbunătățirea/dezvoltarea competențelor personalului implicat – sunt mai multe aspecte ce trebuie să fie menționate în acest caz. Pe de o parte obținerea de formulări noi pe bază de nanostructuri de carbon (nanostructuri de carbon, geluri, lipozomi, nanoparticule cu Carbon Dots incluse etc.), caracterizarea și testarea acestora a adus personalul proiectului în fața unor noi provocări științifice. Astfel, membrii tineri ai proiectului s-au deprins cu metodele și tehnicile de sinteză și preparare a acestor formulări, au învățat și deprins tehnici de caracterizare și au făcut pași importanți în interpretarea rezultatelor obținute. De asemenea, membrii proiectului au fost încurajați să participe la manifestări științifice cu comunicări orale sau sub formă de postere unde au prezentat și susținut rezultatele proiectului. Nu în ultimul rând, membrii consorțiului au participat activ în activitățile organizatorice ale acestui proiect. Astfel, aceștia au fost implicați în activitățile de achiziții, în elaborarea rapoartelor științifico-tehnice, în scrierea lucrărilor științifice, în elaborarea

documentelor necesare predărilor anuale. În acest fel ei au dobândit abilități de lucru în astfel de proiecte fiind motivați să depună la rândul lor proiecte de cercetare pentru competiții.

iii) creșterea gradului de implicare și vizibilitate pe plan internațional, ca urmare a activităților de diseminare – Creșterea vizibilității la nivel național și internațional se datorează în primul rând rezultatelor remarcabile obținute în cadrul proiectului. Aceste rezultate au fost valorificate prin publicarea lor în reviste de prestigiu (de ex. au fost publicate două lucrări în *Nature Scientific Reports*) dar și prin brevetarea unor rezultate la nivel internațional ceea ce credem noi că va atrage universități, instituții de cercetare dar și agenți economici. De asemenea, participarea la manifestări științifice a constituit o cale foarte importantă de a lua contact cu cercetători ce activează în acest domeniu, de a stabili colaborări științifice noi. Din păcate anul 2020, din cauza situației actuale a limitat foarte mult participarea la astfel de acțiuni.

iv) dezvoltarea de noi servicii de cercetare și tehnologice prin folosirea infrastructurii existente și/sau achiziționate la nivelul consorțiului – au fost achiziționate sau s-a contribuit la achiziția de echipamente noi cum sunt de exemplu *Sfera integrare pentru măsurarea randamentelor cuantice* – parte integrantă a spectrometrului de fluorescență precum și *spectrometrul FTIR* au fost utilizate pentru caracterizarea produșilor obținuți în cadrul proiectului. De asemenea, în acest an s-a realizat procedura de achiziție a unui echipament de electrospinning și electrospraying ce va permite abordarea unei direcții noi de cercetare. În primul rând, se va încerca obținerea unor formulări originale de tip nanofibre – Carbon Dots prin această tehnică și evaluarea potențialului antitumoral al acestor formulări.

Un ultim dar foarte important aspect care trebuie abordat este modul cum credem ca va evolua instituția P3 ca urmare a derulării acestui proiect. În mod sintetic principalele argumente sunt:

- a) creșterea numărului de cercetători în instituție care vor contribui la creșterea portofoliului de lucrari, brevete și proiecte ale instituției
- b) dezvoltarea de noi direcții de cercetare – aceea a sintezei și caracterizării de nanostructuri de tip carbon Dots din diferiți precursori ca urmare a transferului de cunoaștere dinspre instituția coordonatoare către partenerul P3. În continuare se vor putea valorifica noțiunile însușite prin continuarea studiilor în domeniului proiectului sau prin testarea potențialului aplicativ al acestora în alte domenii. Există acum un colectiv format din membri ai consorțiului specializat în obținerea și caracterizarea de carbon Dots.
- c) realizarea sub îndrumarea instituției coordonatoare a unui echipament automatizat de obținere a nanostructurilor de tip Carbon Dots va permite în continuare realizarea de astfel de structuri din alți precursori în funcție de aplicația vizată.

6. Detalii privind angajarea si menținerea noilor cercetatori

Nr. posturi asumate de noi cercetatori	8
Nr. posturi ocupate de noi cercetatori	8
Nr. posturi ocupate de noi cercetatori (in prezent)	7

Lista noi cercetatori										
Nr. crt.	Institutie	Nume	Prenume	Pozitia ocupata in cadrul proiectului	Data angajare in proiect	Perioada implicare in proiect	Perioada de sustenabilitate in institutie	Pozitia ocupata	Forma de angajare (nederminata/determinata)	Sursa de finantare pe perioada sustenabilitatii
1.	CO	Savin	Corina	Asistent de cercetare (retras)	01.05.2018	19 luni	(retras)	(retras)	(retras)	(retras)
2.	CO	Fusteș - Dămoc	Iolanda	Asistent de cercetare	01.01.2019	24 luni	31.12.2022	Asistent de cercetare	determinata	Fondul pentru situatii speciale (FSS)
3.	CO	Albu	Cristina	Asistent de cercetare	17.09.2020	13 luni	31.12.2022	Asistent de cercetare	determinata	PCCDI 37/2018 Fondul pentru situatii speciale (FSS)
4.	P1	Craciun	Bogdan	Asistent de cercetare	01.01.2019	24 luni	31.12.2022	Asistent de cercetare	nederminata	Buget de stat
5.	P1	Vasiliiu	Tudor	Asistent de cercetare	01.01.2019	24 luni	31.12.2022	Asistent de cercetare	nederminata	Buget de stat
6.	P2	Luță	Gabriel	Asistent de cercetare	01.10.2018	24 luni	31.12.2022	Asistent de cercetare	nederminata	Buget de stat
7.	P2	Butura	Mihail	Asistent de cercetare	01.10.2018	24 luni	31.12.2020	Asistent de cercetare	nederminata	Buget de stat
8.	P3	Mihai	Marius Mugurel	Asistent de cercetare	06.12.2018	30 luni	31.12.2022	Asistent de cercetare	determinata	Contractele de cercetare ale institutului
9.	P3	Borhan	Adrian Iulian	Asistent de cercetare	06.12.2018	30 luni	31.12.2022	Asistent de cercetare	determinata	Contractele de cercetare ale institutului

Modalitatea de menținere a postului in instituție (art. 6.1.24 din Contractul de finantare)

CO – Universitatea Tehnică Gheorghe Asachi din Iași

- Posturile pentru noi cercetători sunt prevăzute și sunt menținute în Statul de funcții pentru activitatea de cercetare derulată pe baza de proiecte finanțate din competiții naționale și internaționale, structura aprobată anual în Consiliul de Administrație a TU Iași și Senatul TU Iași. Tinerii cercetători vor fi antrenați în activități de cercetare derulate în cadrul centrelor/colectivelor de cercetare în care își desfășoară activitatea

Directorul de proiect. Salarizarea tinerilor cercetători se va face din venituri proprii ale TU Iasi, din Fondul pentru situatii speciale (FSS) și din contractele de cercetare în care vor fi implicați.

P1 – Institutul de Chimie Macromoleculară Petru Poni din Iași

- Salarizarea tinerilor cercetători se face din **bugetul de stat al Academiei Române**.

P2 – Institutul Regional de Oncologie Iași

- Ambii cercetatori au fost angajați pe perioadă nedeterminată în institut. Unul dintre ei a luat decizia sa renunte la pozitia obtinuta urmand a se derula o noua procedura de concurs pentru ocuparea acestui post.

P3 – Institutul National De Cercetare-Dezvoltare Pentru Fizica Tehnică - IFT IAȘI

- În perioada de prelungire a contractului (de la 01.01.2021 pana la 30.09.2021), INCDFT-IFT Iași asigura resursa financiară necesară pentru plata noilor cercetători din fondurile prevăzute în cadrul proiectului 37PCCDI/2018. Dupa finalizarea proiectului 37PCCDI/2018, INCDFT-IFT Iași păstrează și utilizează în activitatea de CD personalul nou angajat în proiect, care va fi plătit din contractele de cercetare ale Institutului.

7. Indicatori de rezultat

<i>Indicatori</i>	<i>Descriere/Denumire</i>	<i>Nr.</i>
Locuri de munca nou create in cercetare (norma intreaga)	Noi cercetatori asumati	8
	Noi cercetatori angajati	8
Consolidarea capacitatii institutiilor cu posibilitati de relansare (cecuri):	Cecuri de tip B: stagii de pregatire (cercetare) si/sau vizite de lucru (scurta durata)	-
	Cecuri de tip C: stagii de formare/instruire pentru resursa umana nou angajata si pentru intelegerea de noi tehnici si tehnologii	-
Servicii de cercetare oferite (realizate) prin utilizarea infrastructurii de cercetare disponibila pentru implementarea proiectului (cecuri):	Cecuri de tip A1: servicii de cercetare oferite intre partenerii consorțiului	13
	Cecuri de tip A2: servicii de cercetare oferite de partenerii consorțiului unor terte parti	-
Articole publicate/acceptate/in evaluare in reviste indexate ISI	-Fe(III) doped carbon nanodots with intense green photoluminescence and dispersion medium dependent emission/2019/ Nature - Scientific Reports/C.S. Stan, A. Coroaba, E.L. Ursu, M.S. Secula, B.C. Simionescu /Publicat -NHF-derived carbon dots: prevalidation approach in breast cancer treatment/2020/ Nature - Scientific Reports/2020/ Nature - Scientific Reports/ C.E. Tiron, G. Luta, M. Butura, F. Zugun-Eloae, C.S. Stan, A. Coroaba, E.L. Ursu, G. D. Stanciu, A.Tiron /Publicat -Entrapment of N-Hydroxyphthalimide Carbon Dots in Different Topical Gel Formulations: New Composites with Anticancer Activity/C.L Savin, C. Tiron, E. Carasevici, C.S. Stan, S.A. Ibanescu, B.C. Simionescu, C.A. Peptu/Publicat -Dynamic rheological behavior of chitosan/collagen mixtures/2020/ Revista de Chimie/ S. Ibanescu, M.	12

	<p>Danu, B. Simionescu, C. Ibanescu/ Publicat</p> <p>-Flash-cooling assisted sol-gel self-ignited synthesis of magnetic carbon dots-based heterostructure with antitumor properties/2020/Materials Science & Engineering C/A. Borhan, D.D. Herea, D. Gherca, C. Stavila, A.E. Minuti, M. Grigoras, C. M. Danceanu, L. Labusca, G. Stoian, G. Ababei, C.S. Stan, N. Lupu, H. Chiriac/Publicat</p> <p>-Preparation, characterization, and application of polysaccharide-based emulsions incorporated with lavender essential oil for skin-friendly cellulosic support / A. Danila, E.I.Muresan, S.A. Ibanescu, A. Popescu, M.Danu, C. Zaharia, G. C. Türkoglu, G.Erkan, A.I. Staras/Publicat</p> <p>-Enhancing anti-tumoral potential of CD-NHF by modulating PI3K/Akt axis in U87 ex vivo glioma model/ G. Luta, M. Butura, A. Tiron, F. Zugun-Eloae, C. Tiron/ Publicat</p> <p>-In silico study of PEI-PEG-squalene-dsDNA polyplex formation: The delicate role of PEG length to the binding of PEI to DNA/] T. Vasiliu, B. F. Craciun, A. Neamtu, L. Clima, D. L. Isac, S. Maier, M. Pinteala, F. Mocci, A. Laaksonen/ Publicat</p> <p>-MALDI mass spectrometry monitoring of cyclodextrin-oligolactide derivatives synthesis D.-A.a Blaj, M. Balan-Porcarasu, B. A. Petre, V. Harabagiu, C. Peptu, MALDI mass spectrometry monitoring of cyclodextrin-oligolactide derivatives synthesis / Acceptat</p> <p>-Stability study and rheological behavior of oil/water lavender emulsions with potential application in skin care products/ M. Danu, A. Danila, S.-A. Ibanescu, C. Zaharia, E. I. Muresan, A. Popescu, V. Rotaru/ Acceptat</p> <p>-Carbon Dots/Doxorubicin Loaded Liposomes as Complex Synergetic Nano Delivery System for Antitumor Applications / C.L. Savin, C. S. Stan, B. Simionescu, C. Ibanescu, C. A. Peptu, A. Tiron, G. Luta, M. Butura, C. E. Tiron, M. Pinteala, D. Herea/In evaluate</p> <p>-Manganese doped N-Hydroxyphthalimide derived Carbon Dots – Theranostics applications in experimental breast cancer models/ A. Tiron, C. S. Stan, G. Luta, C. M. Uritu, I.-C. Vacarean-Trandafir, G. D. Stanciu, A. Coroaba, C. E. Tiron/ In evaluate</p>	
<p>Articole publicate/acceptate/in evaluate in reviste indexate BDI</p>	<p>-Imide derived Carbon Dots – A New Promising Approach in Cancer Treatment/2019/ Nano Sci Nano Tech Ind J/ C. Tiron, F.E. Zugun, C.A. Peptu, C. S. Stan, A. Tiron/ <i>Acceptat</i></p> <p>-Thiolated chitosan for medical applications"/2020"/,</p>	<p>2</p>

	Buletinul Institutului Politehnic Iași, Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi"/ I. Fusteș-Dămoc, C. A. Peptu, Teodor Măluțan/ in evaluare	
Participari la conferinte	<p>-First Balkan Conference on Medical Mycology and Mycotoxicology, Balkan Fungus / Conferinta internationala/ Non-invasive techniques for the investigation of dermatological diseases/2018</p> <p>-The 2nd International Conference on Composite Materials Science and Technology (ICCMST 2019)/ Conferinta internationala/ Photoemissive Cryogels with Tunable Porosity Obtained Through Embedding Carbon Dots in Poly(2-hydroxyethylmethacrylate)/2019</p> <p>-The 2nd International Conference on Composite Materials Science and Technology (ICCMST 2019)/ Conferinta internationala/ Photonic Conversion Mediums Based on Imide Derived Carbon Dots in Polymer Matrices/2019</p> <p>-The 2nd International Conference on Composite Materials Science and Technology (ICCMST 2019)/ Conferinta internationala/ Carbon dots in Liposomes New Approach in Cancer Therapy/2019</p> <p>-The 2nd International Conference on Composite Materials Science and Technology (ICCMST 2019)/ Conferinta internationala/ Carbon Dots Embedded in A Carbomer Gel: A Novel Composite with Antitumoral Activity/2019</p> <p>-Conferinta Internationala Anuala a Societatii Romane de Biochimie si Biologie Moleculara/ Conferinta internationala/ Imide derived Carbon Dots – a new Promising Approach in Cancer Treatment/2019</p> <p>-Conferinta Internationala Anuala a Societatii Romane de Biochimie si Biologie Moleculara/ Conferinta Internationala/ Entrapment of N-Hydroxyphthalimide Carbon Dots in Different Topical Gel Formulations: New Composites with Anticancer Activity/2019</p> <p>-Conferinta Internationala CONFER/ Conferinta Internationala/ Carbon Dots derivati din N-hidroxifalimida – studiu preclinic in cancerul mamar/2019</p> <p>-Conferinta Internationala CONFER/ Conferinta Internationala/ Imbunatatirea efectului antitumoral al nanostructurilor de carbon NHF (CD-NHF) incarcate in lipozomi/2019</p> <p>-5th International Conference on Chemical Engineering - "Innovative Materials and Processes for a Sustainable Development", "Cristofor Simionescu" Faculty of Chemical Engineering and Environmental</p>	14

	<p>Protection, "Gheorghe Asachi" Technical University/ Conferinta Internationala/"Thiolated chitosan for biomedical applications"/2020</p> <p>-International Congress of „Apollonia” University from Iasi, Edition XXX 27th of February – 1st of March 2020/ Conferinta Internationala / Carbon Dots loaded liposomes for antitumoral applications”/2020</p> <p>-Conferinta Internationala CONFER, organizata de Institutul Regional de Oncologie Iasi, acceptat pentru prezentare în perioada 19-22 Noiembrie 2020/ Conferinta Internationala/ Potentarea proprietatilor antitumorale ale CD-NHF de catre inhibitorii K252A, AktVIII in linia celulara de gliom U87/2020</p> <p>-Conferinta Internationala CONFER, organizata de Institutul Regional de Oncologie Iasi/ Conferinta Internationala/ Cai moleculare modulate de catre CD-NHF si inhibitorii K252A, AktVIII in linia celulara de gliom U87/2020</p> <p>-First Balkan Conference on Medical Mycology and Mycotoxicology, - Balkan Fungus 2018/ Conferinta Internationala/ Non-invasive techniques for the investigation of dermatological diseases/2018</p>	
<p>Cereri brevete depuse la nivel national si international</p>	<p>-Compuși coordinativi ai Gd(III) și Mn(II) utilizabili ca precursori de obținere a nanostructurilor de tip „Carbon Dots”/OSIM A/00704/21.09.2018</p> <p>-Hidrogel fluorescent pe baza de nanostructuri de carbon pentru protectia la radiatii UV solare/OSIM A/00751/15.11.2019</p> <p>-Aerogel fotoluminescent higrosensibil pe baza de nanostructuri de carbon/OSIM A/00747/15.11.2019</p> <p>-Instalație automatizată pentru sinteza de nanostructuri de carbon din compuși imidici pentru aplicații biomedicale, nr. înregistrare OSIM a 2021 00309 / 03.06.2021</p> <p>-Manganese-Dopped Nanostructured Carbon Dots with Applications in Antitumoral Treatments and Medical Imaging/ EP20464012/15.10.2020</p>	<p>5</p>

Data

30.09.2021

Director Proiect Complex,

Academician Bogdan Simionescu

