



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2015 00902

(22) Data de depozit: 26/11/2015

(41) Data publicării cererii:
30/05/2017 BOPI nr. 5/2017

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL REGIONAL DE
GASTROENTEROLOGIE-HEPATOLOGIE
"PROF.DR.OCTAVIAN FODOR"
CLUJ-NAPOCA, STR. CONSTANȚA NR. 5,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI
FARMACIE "IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA, STR. VICTOR BABEȘ
NR. 8, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

• MATEA CRISTIAN, STR. CÂMPULUI
NR. 242/9, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• IANCU CORNEL,
STR. HORTICULTORILOR NR.3A,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• POP TEODORA,
STR. ALEXANDRU VLAHUȚA 7/56,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• MOSTEANU OFELIA,
STR. ALEXANDRU VLAHUTA 7/56,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• MOCAN LUCIAN, STR. SITARILOR
NR. 55E, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(72) Inventatori:
• MOCAN TEODORA, STR. SITARILOR
NR. 55E, CASA 2, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;

(54) **PROCEDEU DE OBTINERE A UNUI PRODUS
CU APLICABILITATE ÎN CHIMIOTERAPIA OPTIMIZATĂ
A NEOPLASMULUI DE PANCREAS**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui produs cu aplicabilitate în chimioterapia optimizată a neoplasmului de pancreas. Procedeu conform invenției constă în aceea că, în prima etapă, se obțin nanoparticule de argint stabilizate cu citrat, care este apoi înlocuit cu polietilenglicol ditiolitic, după care se funcționează cu cis-diclordiaminoplatinum (II), nano-

particulele astfel funcționalizate se supun unor etape succesive de centrifugare și redispersie prin ultrasonare în apă bidistilată, pentru eliminarea produșilor de reacție secundari.

Revendicări: 1



Procedeu de obtinere a unui produs cu aplicabilitate in chimioterapia optimizata a neoplasmului de pancreas

Inventia se refera la un procedeu de obtinere a unui produs cu aplicabilitate in chimioterapia optimizata a neoplasmului de pancreas.

Este cunoscut faptul ca una dintre cele mai letale tumori solide la oameni, cancerul pancreatic (CP) prezinta o rata de supravietuire generala de 5 ani mai mica de 5%. La momentul actual, resectia chirurgicala a tumorii primare este singura abordare terapeutica care ofera imbunatatire in supravietuire. Mai mult decat atat, CP, de asemenea, una dintre tumorile cele mai rezistente la medicamente (1) Chimioterapice precum : Cisplatin, Gemcitabina Capecitabina, 5 Fluoro-Uracil, Erlotinib, Oxaliplatin, Bevacizumab, Cetuximab, Epirubicina, Factorul opioid de crestere, Docetaxel, Celecoxid, Paclitaxelul utilizate in tratamentul cancerului de pancreas au inregistrat rate de raspuns in tratamentul neoplasmului pancreatic ce nu depasesc 6,3%(2), iar cresterea intervalului de supravietuire global nu depaseste in medie cu 5,6 luni(3).(4).

Capacitatea de internalizare in celule, citotoxicitatea si genotoxicitatea nanoparticulelor de argint (AgNPs) au fost demonstrate in diverse experimente (5), (6). De asemenea, efectul antibacterian al acestui tip de nanoparticule a fost intens studiat si demonstrat(7), (8). Cercetari recente au demonstrat potential de utilizare al nanoparticulelor de argint ca vectori pentru Tamoxifen in tratamentul neoplaziilor de san. (9). Toate aceste evidente preliminare justifica utilizarea, in cazul produsului propus, a nanoparticulelor de argint ca vectori intracelulari pentru moleculele de chimioterapic (Cisplatinul) pentru eficientizarea tratamentului cancerului pancreatic. Se cunoaste faptul ca nivelul scazut de preluare intracelulara a Cisplatinului se datoreaza expresiei deficitare a transportorului CTR1, proteina responsabila de transportul transmembranar al chimioterapicului. (10). Din acest motiv AgNPs prezinta, prin capacitatea ridicata de internalizare celulara spontana, potentialul de a interfera cu principalul mecanism de chimiorezistenta a Cisplatinului.

Solutiile cunoscute prezinta urmatoarele dezavantaje: nu confera protectie duala, antibiotica si antitumorală. Astfel, chimioterapicele uzuale induc un risc crescut de infectii severe prin imunosupresie.

Problema pe care o rezolva inventia: Produsul propus prezinta potentialul de reducere/inlaturare a rezistentei terapeutice la Cisplatin a adenocarcinomului pancreatic prin cresterea acumularii intracelulare a acestuia. De asemenea, efectele antibacteriene ale

nanoparticulelor de argint aduc compusului in plus un efect protector adjuvant impotriva riscului infectios (specific imunosupresiei secundare chimioterapiei).

Inventia prezinta urmatoarele avantaje: produsul este in mod particular util in perioadele de imunosupresie indusa de chimioterapie prin proprietatile sale antibacteriene.

Scopul inventiei inventiei este de a genera un nou compus format din nanoparticule de argint functionalizate cu Cisplatin cu potential terapeutic optimizat in cancerul de pancreas.

Procedura conform inventiei consta din aceea ca ca nanoparticulele de argint sunt initial sintetizate prin reducerea Ag^+ la Ag^0 in prezenta citratului de sodiu. In urmatoarea etapa se efectueaza o schimbare a agentului de stabilizare al nanoparticulelor cu polietilenglicol ditiolic (PEG). Functionalizare nanopaticulelor de argint stabilizate cu PEG se face prin legarea covalenta a acestora cu cisplatin (CDDP), bazata pe afinitatea marita a cisplatinului pentru gruparea -SH a polietilenglicolului ditiolic. Nanoparticulele de argint astfel functionalizate se supun unor etape successive de centrifugare si redispersare prin ultrasonare in H_2O bidist. in vederea inlaturarii produsilor de reactie secundari. Acest nou tip de nanostructura obtinuta prezinta aplicabilitate in chimioterapia optimizata a neoplasmului de pancreas.

Se da in continuare un exemplu de realizare conform inventiei:

Sinteza nanoparticulelor de argint (AgNP) se realizeaza in mediu apos: 27 mg de $AgNO_3$ sunt dizolvate in 150 mL H_2O bidist. este incalzita la $100^{\circ}C$, apoi se adauga 15mg citrat de sodiu (Sigma-Aldrich cod S4641) dizolvate in 1 mL H_2O bidist., si reactia este lasata sa continue la $100^{\circ}C$ si sub agitare continua pana ce culoarea vireaza la un galben-pal. In etapa urmatoare se trece la inlocuirea citratului de pe suprafata nanoparticulelor de argint cu polietilenglicol ditiolic. La 30mL AgNP sunt adaugati 30mL H_2O dist. si 5mL PEG 500 μ M si apoi pH-ul solutiei este ajustat la 7 cu ajutorul Na_2HPO_4 0.2M. Dupa ce areactia a fost lasata la perfectare 50 de minute, la 10mL AgNP-PEG se adauga 5 mL sol. Cisplatin [cis-Dichlorodiamminoplatinum (II)] si se tine sub agitare 240 de minute, la temperatura camerei. Nanoparticulele de Ag functionalizate cu Cisplatin (AgNP-PEG-Cisplatin) sunt supuse unor etape de centrifugare (15000 RPM/30 min.) si redispersare prin ultrasonare in H_2O bidist. in vederea inlaturarii produsilor de reactie secundari. Solutia de AgNP-PEG- Cisplatin este supusa caracterizarii prin metode spectrale (UV-Vis). Spectrul UV-Vis al AgNP prezinta un maxim de absorbtie specific pentru nanoparticule de Ag la $\lambda_{max}=419nm$. In cazul AgNP-PEG-

Cisplatin acest maxim de absorbtie sufera un efect batocromic, nanoparticulele functionalizate cu peptida JAG-1 au un $\lambda_{\max}=424\text{nm}$.

Aplicatii pe subiecti umani sau animale. Produsul prezentat nu a fost inca testat pe animale sau subiecti umani, fiind inca in faza de testare prealabila *in vitro* a citotoxicitatii, urmand ca intr-o etapa ulterioara sa se experimenteze efectele *in vivo* ale acestuia.

Revendicarile inventiei

Prin prezenta inventie se revendica procedeul de obtinere a nanostructurilor functionalizate de tip AgNP-PEG-Cisplatin cu aplicabilitate in chimioterapia optimizata a neoplasmului de pancreas, caracterizat prin aceea ca, in scopul inlaturarii/reducerii rezistentei terapeutice la Cisplatin a adenocarcinomului pancreatic prin cresterea acumularii intracelulare a acestuia si generarea unui efect protector adjuvant impotriva riscului infectios chmioterapeuticul Cisplatin este cuplat covalent de nanoparticule de argint.

Sinteza nanoparticulelor de argint (AgNP) se realizeaza in mediu apos: 27 mg de AgNO_3 sunt dizolvate in 150 mL H_2O bidist. este incalzita la 100°C , apoi se adauga 15mg citrat de sodiu (Sigma-Aldrich cod S4641) dizolvate in 1 mL H_2O bidist., si reactia este lasata sa continue la 100°C si sub agitare continua pana ce culoarea vireaza la un galben-pal. In etapa urmatoare se trece la inlocuirea citratului de pe suprafata nanoparticulelor de argint cu polietilenglicol ditiolic. La 30mL AgNP sunt adaugati 30mL H_2O dist. si 5mL PEG 500 μM si apoi pH-ul solutiei este ajustat la 7 cu ajutorul Na_2HPO_4 0.2M. Dupa ce areactia a fost lasata la perfectare 50 de minute, la 10mL AgNP-PEG se adauga 5 mL sol. Cisplatin [cis-Dichlorodiamminoplatinum (II)] si se tine sub agitare 240 de minute, la temperatura camerei. Nanoparticulele de Ag functionalizate cu Cisplatin (AgNP-PEG-Cisplatin) sunt supuse unor etape de centrifugare (15000 RPM/30 min.) si redispersare prin ultrasonare in H_2O bidist. in vederea inlaturarii produsilor de reactie secundari.