



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2023 00730

(22) Data de depozit: 23/11/2023

(41) Data publicării cererii:  
30/04/2024 BOPI nr. 4/2024

(71) Solicitant:  
• UNIVERSITATEA NAȚIONALĂ DE  
ȘTIINȚĂ ȘI TEHNOLOGIE POLITEHNICA  
BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI,  
NR.313, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;  
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE  
- DEZVOLTARE PENTRU FIZICĂ ȘI  
INGINERIE NUCLEARĂ "HORIA  
HULUBEI"(IFIN-HH), STR. REACTORULUI,  
NR.30, MĂGURELE, IF, RO

(72) Inventatori:  
• BERGER DANIELA-CRISTINA,  
STR.SEBASTIAN MIHAIL, NR.110, BL.V86,  
SC.1, AP.4, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B,  
RO;

• DEACONU MIHAELA, STR. MĂMULARI,  
NR.5, ET.2, AP.4, SECTOR 3, BUCUREȘTI,  
B, RO;  
• IONIȚĂ SIMONA, SPLAIUL  
INDEPENDENȚEI, NR.202M, SC.2, ET.11,  
AP.237, BUCUREȘTI, B, RO;  
• MATEI CRISTIAN, STR. SEBASTIAN  
MIHAIL, NR.110, BL.V86, SC.1, AP.4,  
SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;  
• MIHĂILESCU MONA, ALE.SOMEȘUL  
RECE, NR.21, BL.8, SC.3, ET.1, AP.40,  
SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;  
• POPESCU ROXANA-CRISTINA,  
STR.DEZROBIRII, NR.12, BL.E5, SC.3,  
AP.9, CRAIOVA, DJ, RO;  
• SAVU IULIA-DIANA, STR.DEALULUI,  
NR.3, BL.F3, AP.53, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO

(54) **MATERIALE COMPOZITE CE CONȚIN SILICE  
MEZOPOROASĂ FUNCȚIONALIZATĂ CU ACID  
PARA-CARBOXIFENIL BORONIC ȘI SUBSTANȚE BIOLOGIC  
ACTIVE. PROCEDEU DE OBTINERE ȘI APLICAȚII  
BIOMEDICALE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor materiale compozite cu aplicabilitate ca sisteme cu eliberare țintită a agentului citostatic în țesutul tumoral. Procedeu, conform invenției, constă în etapele: adsorbția fizică a acidului para-carboxifenil boronic pe silice mezoporoasă pură, reacția chimică a compusului rezultat cu 3-aminopropiltriethoxisilan în toluen, la reflux, din care se formează transportorul de silice funcționalizat cu grupări de derivat boronic, impregnarea cu o soluție conținând substanțe biologice active, de tip agent

citostatic (doxorubicină) și un compus natural cu acțiune antitumorală (resveratrol), rezultând materiale compozite care încapsulează concentrații ridicate de agenți citostatici și/sau compuși biologici activi, având activitate antitumorală pronunțată pentru celulele de cancer mamar.

Revendicări: 4  
Figuri: 7

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



OFICIUL DE STAT PENTRU BREVETE ȘI MĂRCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr. ....	a 2023 00720
Data depozit .....	23-11-2023

**Titlul invenției**

MATERIALE COMPOZITE CE CONȚIN SILICE MEZOPOROASĂ FUNCȚIONALIZATĂ CU ACID *para*-CARBOXIFENIL BORONIC ȘI SUBSTANȚE BIOLOGIC ACTIVE. PROCEDEU DE OBTINERE ȘI APLICAȚII BIOMEDICALE

Inventatori: BERGER Daniela-Cristina, DEACONU Mihaela, IONIȚĂ Simona, MATEI Cristian, MIHĂILESCU Mona, POPESCU Roxana-Cristina, SAVU Diana-Iulia

**Descriere**

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unor materiale compozite care pot funcționa ca sisteme cu eliberare țintită a țesutului tumoral de substanțe biologic active ce conțin silice mezoporoasă funcționalizată cu acid *para*-carboxifenil boronic ca transportor și substanțe biologic active, de exemplu, doxorubicină și resveratrol.

Se cunoaște că derivații de acid fenilboronic, ce conțin un atom de bor legat de două grupări hidroxil, pot să lege reversibil 1,2-dioli sau 1,3-dioli, aceasta conferindu-le proprietatea de a ținti biomolecule, precum glucoza, glicoproteine etc. (W.L.A. Brooks, B.S. Sumerlin, *Chem. Rev.* **2016**, **116**, 1375–1397). Țintirea activă a țesutului tumoral presupune existența unor grupări pe suprafața transportorului (suportului) sub formă de nanoparticule care determină legarea nanoparticulelor de diverși receptori de pe suprafața celulelor canceroase. Aceasta permite eliberarea agentului antitumoral în mediul tumoral extracelular sau intracelular. (V. Sanna, N. Pala, M. Sechi, *International Journal of Nanomedicine*, **2014**, **9**, 467). Derivații acidului fenilboronic formând reversibil esteri boronici ciclici cu polioli pot recunoaște acidul sialic prezent în celule canceroase. Studii anterioare au demonstrat că nanoparticule polimerice decorate cu derivați fenilboronici țintesc specific acidul sialic din celulele canceroase. (T. Lan, Q. Guo, *Nanotechnol Rev* **2019**; **8**, 548–561).

În ultimii ani, acizii și esterii boronici sunt cercetați pentru domeniul medical și farmaceutic datorită caracterului extrem de oxofil și a toxicității reduse. Aceștia sunt cunoscuți ca inhibitori puternici ai enzimelor, agenți de captare pentru terapia cancerului și a faptului că pot imita anumite tipuri de anticorpi pentru combaterea infecțiilor. În ultimii 20 ani au fost dezvoltate 5 medicamente pe bază de acid boronic ce au fost aprobate de *Food and Drug Administration* și *Health Canada*, două dintre acestea fiind folosite pentru a trata cancerul, în special mielomul multiplu. Medicamentele aprobate pot trata șase tipuri de cancer: mielom multiplu, cancer de prostată, cancer de sân, cancer pulmonar, cancer de col uterin și de colon. (M.K. Al-Omari, M. Elaarag, R.M. Al-Zoubi, A.R. Al-Qudimat, Ayman A. Zarour, E.A. Al-Hurani, Z.E. Fares, L.M. Alkharraz, M. Shkoor, A.D. Bani-Yaseen, O.M. Aboumarzouk, A. Yassin, A.A. Al-Ansari, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* **2023**, **38**, 2220084).

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția constă în posibilitatea de a combina avantajele pe care le oferă transportorul de silice mezoporoasă ce poate acomoda o concentrație ridicată de molecule organice datorită porozității ridicate (H. Ahmed, S.S. Gomte, E. Prathyusha, A. Prabakaran, M. Agrawal, A. Alexander, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **2022**, **76**, 103729) și derivații de acid fenilboronic care îmbunătățesc caracterul oxofil al transportorului, și de interacție cu acidului sialic prezent în celulele canceroase. Spre deosebire de stadiul tehnicii, prezenta invenție propune sisteme cu eliberare țintită pe bază de materiale compozite ce conțin un transportor de tip silice mezoporoasă la care derivatul de acid boronic este legat chimic de silicea mezoporoasă și una sau două substanțe biologic active adsorbite drept molecule „cargu”, precum un agent citostatic (de exemplu, doxorubicină) și un compus natural (de exemplu, resveratrol) cu acțiune antitumorală (I.R. Sousa Vieira, L. Tessaro, A.K. Oliveira Lima, I.P. Silva Velloso, C.A. Conte-Junior,



*Nutrients* 2023, 15, 3136; S. Ionita, D. Lincu, R.A. Mitran, L. Ziko, N.K. Sedky, M. Deaconu, A.-M. Brezoiu, C. Matei, D. Berger, *Pharmaceutics* 2022, 14, 203.).

Un prim obiectiv al invenției constă într-un material compozit ce conține silice mezoporoasă funcționalizată (prin legare chimică) cu acid *para*-carboxifenil boronic prin intermediul grupărilor amidice și una sau două substanțe cu activitate antitumorală. De preferat, silicea pură prezintă pori cu dimensiuni medii între 2 și 20 nm și o rețea de pori cu simetrie hexagonală. De preferat, substanțele biologice active sunt adsorbite în porii silice mezoporoase funcționalizate cu derivat boronic, dintre care cel puțin una este un agent citostatic.

Un alt obiectiv al invenției constă într-un procedeu de obținere a materialului compozit ce conține silice mezoporoasă funcționalizată cu acid *para*-carboxifenil boronic și substanțe biologice active cu acțiune antitumorală în porii silice funcționalizate, descris prin următoarele etape:

1. Obținerea silicei mezoporoase funcționalizate cu acid *para*-carboxifenil boronic printr-o metodă ce constă în adsorbția fizică din etanol a derivatului *para*-carboxifenil boronic în silice mezoporoasă pură în proporție de 15...45%(gr) în materialul rezultat prin metode uzuale și eliminarea solventului prin evaporare în vid.
2. Obținere materialului de tip silice mezoporoasă funcționalizată prin legare chimică a acidului *para*-carboxifenil boronic inițial adsorbit fizic în mezoporii silicei în proporție de 15...45%(gr) printr-un procedeu ce constă în reacția chimică dintre silicea mezoporoasă cu acid *para*-carboxifenil boronic adsorbit fizic și 3-aminopropiltrietoxisilan (APTES) în raport molar silice/APTES de 1:0,1...1:0,2 în solvent (de preferință toluen) la reflux, astfel având loc reacția de condensare a grupărilor aminice ale organosilanului și gruparea carboxil a acidului *para*-carboxifenilboronic cu formare de grupări amidice. Raportul atomic în transportorul de tip silice funcționalizată cu derivat de acid *para*-carboxifenil boronic (determinat prin analiza de spectrometrie cu absorbție atomică corelată cu analiza termogravimetrică) B/N/Si este de 0,05/0,60/1...0,06/0,10/1.
3. Obținerea materialelor compozite ce conțin silice mezoporoasă funcționalizată cu derivat de acid boronic aromatic și una sau două substanțe biologice active, cu acțiune antitumorală, prin metodele uzuale. De exemplu, amestecarea silicei mezoporoase funcționalizată cu derivat de acid *para*-carboxifenil boronic cu prima substanță biologic activă cu acțiune antitumorală dizolvată în volumul minim de solvent, în raport masic, silice funcționalizată/agent citostatic de 85/15...95/5, urmată de evaporarea solventului în vid înaintat (3 mbar). Pulberea de material compozit de tip silice mezoporoasă funcționalizată cu derivat boronic ce conține prima substanță biologic activă se amestecă sub agitare cu cea de a doua substanță biologic activă dizolvată într-un volum minim de solvent, urmată de evaporarea solventului în vid.

Ultimul obiect al invenției constă în utilizarea materialelor compozite ce conțin silice mezoporoasă funcționalizată cu derivat de acid boronic aromatic și una sau două substanțe biologice active dintre care un agent chemoterapeutic ca sisteme cu eliberare țintită a agentului citostatic.

Avantajele aduse de materialele compozite ce conțin silice funcționalizată cu acid *para*-carboxifenil boronic și una sau două substanțe cu activitate antitumorală și procedeu de obținere a acestora, față de stadiul tehnicii, includ:

- posibilitate de realizare de sisteme cu eliberare țintită a țesutului tumoral ce conțin silice mezoporoasă funcționalizată cu derivat de acid *para*-carboxifenil boronic drept transportor ce prezintă toxicitate redusă, de exemplu fibroblaste dermale de tip BJ, pentru diferite substanțe



*[Handwritten signature]*



cu acțiune antitumorală, indiferent de natura acestora, cu concentrația dorită între 7...20%(gr) în materialul compozit;

- realizarea unui procedeu care să permită obținerea de transportori de silice mezoporoasă funcționalizată cu derivat de acid *para*-carboxifenil boronic prin adsorbția în porii silicei a acidului *para*-carboxifenil boronic, urmată de reacția de condensare dintre gruparea carboxil a derivatului boronic și gruparea aminică a organosilanului, 3-aminopropiltriethoxisilan;
- posibilitatea de realizare de sisteme cu eliberare țintită de substanțe biologice active indiferent de mărimea porilor silicei mezoporoase;
- posibilitatea de obținere a unui transportor de silice mezoporoasă funcționalizată cu derivat de acid *para*-carboxifenil boronic ce demonstrează o internalizare bună în celulele tumorale de cancer de sân BT474 evidențiată prin microscopie hiperspectrală.

Pentru susținerea invenției, sunt prezentate două exemple de realizare a materialelor compozite ce conțin silice mezoporoasă funcționalizată cu derivat de acid *para*-carboxifenil boronic.

### Exemplul 1

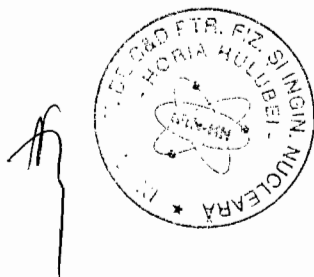
Material compozit ce conține silice de tip MCM-41 funcționalizată cu derivat boronic (MCM-CPBA), doxorubicină (Dox) și resveratrol (Resv). Acidul *para*-carboxifenil boronic a fost mai întâi adsorbit sub formă de soluție etanolică cu o concentrație de 20 mg/mL în mezoporii silicei de tip MCM-41, calcinată în prealabil la 550°C, în proporție de 40%(gr.) în solidul rezultat. Peste 278 mg MCM-41 se adaugă 9,25 mL soluție etanolică de acid *para*-carboxifenil boronic cu concentrația 20 mg/mL și apoi se evaporă solventul în vid rezultând o pulbere albă, uscată, notată cu CPBA@MCM-41. 0,4628 g CPBA@MCM-41 se dispersează în 35 mL toluen uscat și apoi se adaugă 166  $\mu$ L 3-aminopropiltriethoxisilan (APTES). Amestecul de reacție se refluxează timp de 16 h. Apoi pulberea se separă prin centrifugare, se spală cu toluen (30 mL), acetonă (25 mL) și etanol de trei ori (cu câte 25 mL) și se usucă la temperatura camerei, rezultând transportorul MCM-CPBA cu următoarele caracteristici: raport atomic B/N/Si=0,06/0,06/1; suprafața specifică determinată cu metoda Brunauer Emmett Teller,  $S_{BET}$ =344 m<sup>2</sup>/g; volumul total de pori măsurat la presiunea relativă,  $P/P_0$ =0,99,  $V_{pori}$ =0,85 cm<sup>3</sup>/g.

Materialul MCM-CPBA sub formă de pulbere, uscat în vid, la 3 mbar la temperatura camerei, este utilizat drept transportor pentru doxorubicină și resveratrol. Peste 90 mg silice funcționalizată MCM-CPBA se adaugă 0,334 mL soluție etanolică de resveratrol cu concentrația de 30 mg/mL. Suspensia rezultată se omogenizează prin agitare la temperatura camerei timp de 15 minute, iar apoi solventul se evaporă complet, în vid, la 3 mbar. Compusul rezultat este notat cu Resv@MCM-CPBA și conține 9...11%(gr) resveratrol. Peste 100 mg Resv@MCM-CPBA se adaugă 1 mL soluție apoasă de clorhidrat de doxorubicină cu concentrația 10 mg/mL, iar suspensia rezultată se omogenizează în întuneric, sub agitare orbitală. Apoi solventul se evaporă complet sub vid, la o presiune de 3 mbar. Materialul compozit rezultat se notează cu Dox@Resv@MCM-CPBA și conține doxorubicină 7...12% doxorubicină și 7...12%(gr.) resveratrol

### Exemplul 2

Material compozit ce conține silice de tip SBA-15 funcționalizată cu derivat carboxifenil boronic (SBA-CPBA), doxorubicină (Dox), material denumit Dox@SBA-CPBA. Peste 0,2386 g silice de tip SBA-15 se adaugă 6,36 mL soluție etanolică de acid *para*-carboxifenil boronic de concentrație 25 mg/mL, iar suspensia obținută se omogenizează, iar apoi solventul se evaporă în vid (3 mbar).

Peste 0,3231 g CPBA@SBA-15 dispersat în 20 mL toluen se adaugă 0,116 mL APTES dispersat în prealabil în 5 mL toluen și amestecul de reacție se refluxează timp de 16 h. Apoi solidul rezultat se separă prin centrifugare, se spală cu toluen (20 mL), acetonă (25 mL) și



etanol (50 mL) și se usucă la temperatura camerei cu formarea materialului denumit SBA-CPBA cu caracteristicile: B/N/Si=0,05/0,10/1;  $S_{BET}=314 \text{ m}^2/\text{g}$  și  $V_{\text{pori}}=0,87 \text{ cm}^3/\text{g}$ .

Peste 0,9730 g SBA-CPBA se adaugă 1,08 mL soluție aposă de clorhidrat de doxorubicină (Dox) de concentrație 10 mg/mL. Amestecul de reacție se omogenizează prin agitare orbitală, la temperatura camerei, în întuneric, iar solventul se evaporă simultan sub vid (3 mbar).

Transportorii de tip silice mezoporoasă funcționalizată cu derivat de acid *para*-carboxifenil boronic s-au caracterizat prin spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier (FTIR) în domeniul  $400\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$ , în pastile de KBr, difracție de raze X la unghiuri mici,  $2\theta=1,2\dots6,0^\circ$ , cu o viteză de scanare de  $0,5^\circ/\text{min}$ , și un pas de  $0,02^\circ$ , analiză termică (analiză termogravimetrică cuplată cu analiză termică diferențială) în domeniul  $30^\circ\text{...}800^\circ\text{C}$ , izoterme de adsorbție/desorbție a azotului înregistrate la 77 K, iar conținutul de bor s-a determinat prin spectrometrie cu absorbție atomică pe probe mineralizate.

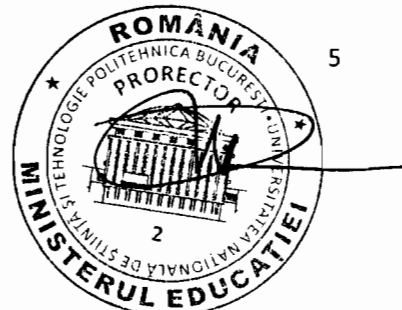
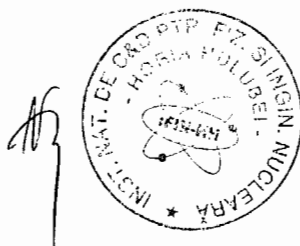
Internalizarea nanoparticulelor de silice funcționalizată cu derivat fenilboronic în celule de cancer ductal de sân BT474 și în celule fibroblaste dermale umane BJ a fost evaluată prin microscopie hiperspectrală de înaltă rezoluție folosind echipamentul CytoViva în configurația câmpului întunecat. Probele celulare au fost pregătite prin însămânțarea a 10000 celule/lamelă de 10 mm pentru microscopie. Celulele au fost incubate timp de 4 h pentru a permite atașarea de suport, după care au fost adăugate suspensii de nanoparticule de silice funcționalizată cu derivat fenilboronic în concentrație de  $150 \mu\text{g}/\text{mL}$  și incubate pentru alte 16 h în condiții standard de temperatură și umiditate. După acest interval de timp, celulele au fost spălate de 5 ori cu soluție tampon fosfat pentru a permite îndepărtarea nanoparticulelor care nu au fost internalizate. Celulele au fost apoi fixate cu formaldehidă în soluție tampon de fosfat cu concentrația 3,7%, timp de 30 min și spălate apoi de 2 ori cu soluție tampon de fosfat. După această etapă, lamelele au fost montate pe o lamă de microscop cu ajutorul unei soluții de glicerol și sigilate.

Imaginile hiperspectrale au fost înregistrate folosind microscopul Cytoviva care funcționează în câmp întunecat. S-a folosit modulul hiperspectral al acestui sistem, iar imaginile au fost obținute prin scanare linie cu linie la timpi de expunere aleși adecvat pentru fiecare probă (timpii de expunere au fost  $1,5\text{...}3,5 \text{ s}$ ).

Evaluarea citotoxicității materialelor compozite ce conțin silice mezoporoasă funcționalizată cu derivat de acid fenilboronic, obținute conform procedurii din exemplele 1 și 2, a substanțelor biologice active, doxorubicină și resveratrol, precum și a transportorilor de silica mezoporoasă funcționalizată obținuți conform procedurii din exemplele 1 și 2, s-a efectuat pe celule normale BJ de tip fibroblaste dermale umane și pe celule tumorale BT474, de tip cancer ductal de sân. Viabilitatea celulară în urma tratamentului cu nanoparticule de material compozit, de transportor, cu concentrații de  $50\text{...}150 \mu\text{g}/\text{mL}$ , sau soluții de substanțe biologice active cu concentrații echivalente cu cele din materialele compozite, de  $5\text{...}15 \mu\text{g}/\text{mL}$ , a fost determinată cantitativ utilizând testul MTT cu săruri de tetrazolium.

Celulele au fost însămânțate în plăci cu 96 de godeuri la o concentrație de 2000 celule/godeu în mediu de cultură complet (DMEM, suplimentat cu 10% FBS și 0,1% Penicilină-Streptomycină) și incubate timp de 24 h în condiții standard de temperatură și umiditate ( $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 95% umiditate) pentru a permite atașarea acestora. După acest timp, mediul de cultură a fost îndepărtat și înlocuit cu mediu proaspăt cu nanoparticule de diferite concentrații, respectiv concentrații echivalente de doxorubicină și resveratrol.

Celulele au fost incubate în prezența tratamentului cu nanoparticule pentru 24 h, 48 h sau 72 h. După acest interval de timp, mediul de cultură cu nanoparticule a fost îndepărtat de pe celule și înlocuit cu mediu de cultură cu 10% MTT. Celulele au fost incubate în prezența MTT pentru 1...2 h în condiții standard de temperatură și umiditate. După acest timp, mediul a fost îndepărtat, iar cristalele de formazan rezultate au fost solubilizate cu dimetilsulfoxid.



Absorbanța supernatantului a fost măsurată la lungimea de undă de 570 nm, folosind un cititor de plăci. Absorbanța blank-ului a fost extrasă din absorbanța probelor, iar viabilitatea a fost calculată prin raportare la control.

În fig. 1 se prezintă spectrele FTIR ale transportorilor de tip silice mezoporoasă funcționalizată cu derivat de acid *para*-carboxifenil boronic obținute conform procedurilor 1 și 2 în comparație cu cel al silicei pure de tip MCM-41 și cel al acidului *para*-carboxifenil boronic în care se observă vibrații ale grupării amidice la  $1528\text{ cm}^{-1}$  și banda de la  $1390\text{ cm}^{-1}$  specifică pentru gruparea de acid boronic.

În fig. 2-stânga se prezintă izoterma de adsorbție-desorbție a azotului înregistrată la 77 K a transportorului MCM-CPBA sintetizat conform procedurii din exemplul 1. Inserată în fig. 2-stânga se prezintă distribuția după dimensiuni a porilor calculată cu teoria funcțională a densității (DFT). În fig. 2-dreapta se prezintă izoterma de adsorbție-desorbție a azotului înregistrată la 77 K a transportorului SBA-CPBA sintetizat conform procedurii din exemplul 2 în comparație cu cea a silicei pure de tip SBA-15. Inserată în fig. 2-dreapta se prezintă distribuția după dimensiuni a porilor calculată cu teoria Barrett Joyner Halenda (BJH) din curba de adsorbție a izotermei.

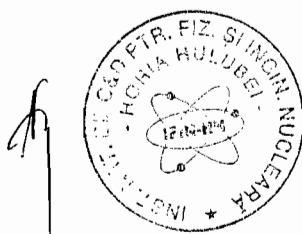
În fig. 3 se prezintă difractograma de raze X la unghiuri mici a transportorului de tip silice funcționalizată cu derivat de acid *para*-carboxifenil boronic sintetizat conform procedurii din exemplul 1 (MCM-CPBA) în comparație cu cea a silicei pure de tip MCM-41. Probele sintetizate prin procedurile conform exemplelor 1 și 2 au prezentat o rețea de pori cu simetrie hexagonală conform analizei de direcție de raze X la unghiuri mici.

În fig. 4 se prezintă difractogramele de raze X la unghiuri mari ale materialelor compozite obținute conform procedurilor din exemplele 1 și 2 și care demonstrează prezența atât a agentului citostatic, doxorubicină, cât și a compusului natural, resveratrol, în stare amorfă în porii transportorului de silice mezoporoasă funcționalizată cu derivat boronic.

În fig. 5 se prezintă spectrele FTIR ale materialelor compozite obținute conform procedurilor din exemplele 1 și 2 în comparație cu spectrele FTIR ale substanțelor biologice active, doxorubicină și resveratrol. S-a observat o deplasare a vibrațiilor legăturii C=O din molecula doxorubicinei în spectrele FTIR ale materialele compozite, care sugerează interacții între moleculele de doxorubicină și transportorii de silice mezoporoasă funcționalizată cu derivat fenil boronic.

În fig. 6 în partea de sus se prezintă amprenta spectrală pentru transportorul de silice funcționalizată cu derivat fenilboronic obținut conform procedurii din exemplul 1 în mediu de cultură, iar în partea de jos procedura SAM (Spectral Angle Mapper) pe imagini hiperspectrale în mediu de cultură pe cele două linii celulare, fibroblaste dermale BJ și celulele de cancer de sân BT474. Principala diferență între cele două tipuri de linii celulare, fibroblaste dermale BJ și celule tumorale de cancer de sân BT474, observată prin microscopie hiperspectrală este că, în celulele tumorale, nanoparticulele de silice funcționalizată cu derivat boronic sunt observate în citoplasmă în grupuri de densitate mare, în timp ce în fibroblastele dermale umane, nanoparticulele de silice funcționalizate apar ca puncte mici localizate uniform în citoplasmă.

În fig. 7 se prezintă datele de viabilitate celulară obținute pentru probele obținute conform procedurii din exemplul 1 pe celulele tumorale de cancer de sân BT474, la timpi de incubare diferiți (fig. 7A și B) și pe celulele normale dermale umane BJ, la timpi de incubare diferiți (fig. 7 C, D și E). Rezultatele indică o citotoxicitate mult mai mare pe celulele tumorale BT474, viabilitatea celulară determinată fiind cuprinsă în intervalul 10,6...3,2% la tratamentul cu nanoparticulele de material compozit cu concentrație de  $100\text{ }\mu\text{g/mL}$  sau  $150\text{ }\mu\text{g/mL}$ , decât pe celule normale dermale BJ (viabilitatea celulară fiind în acest caz cuprinsă în intervalul 32,8...26,6%). De asemenea, încapsularea doxorubicinei în transportorul de silice mezoporoasă funcționalizată cu derivat fenilboronic determină reducerea citotoxicității agentului tumoral pe



fibroblaste (32,8%...29,7% în cazul Dox@MCM-CPBA față de 21,0...16,1% pentru doxorubicină în aceeași concentrație ca în materialul compozit). Încapsularea împreună a resveratrolului cu doxorubicină în transportorul de silice mezoporoasă funcționalizată cu derivat fenilboronic conform procedurii descrise în exemplul 1 determină o activitate tumorală mai pronunțată pentru celulele de cancer de sân, viabilitatea celulară înregistrată fiind de 4,2...3,2% la o doză de tratament de 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  sau 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , față de doxorubicină pentru care viabilitatea celulară determinată a variat în intervalul 11,9...8,7%.



**Revendicări**

1. Material compozit, **caracterizat prin aceea că** acesta conține silice mezoporoasă funcționalizată de suprafața căreia este legat acidul *para*-carboxifenil boronic ca transportor și un agent citostatic și/sau un compus biologic activ.
2. Suportul de tip silice mezoporoasă funcționalizată cu acid *para*-carboxifenil boronic conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** raportul molar între silice și derivatul de acid boronic este 1:0,04 ... 0,07.
3. Procedeu de obținere a materialului compozit, conform revendicării 1 și 2, **caracterizat prin aceea că** prima etapă constă în legarea chimică de silicea mezoporoasă a acidului *para*-carboxifenil boronic prin legături amidice în solvent organic nepolar prin folosirea 3-aminopropiltriethoxisilan.
4. Material compozit, conform oricărei dintre revendicările 1, 2 și 3, ca sistem cu eliberare țintită a substanțelor biologic active în celulele canceroase.





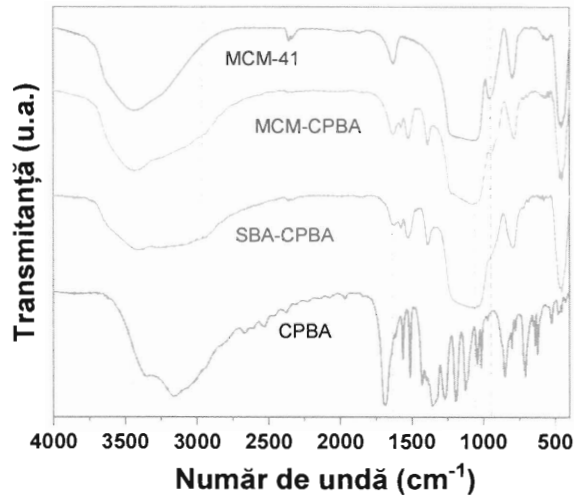


Fig. 1

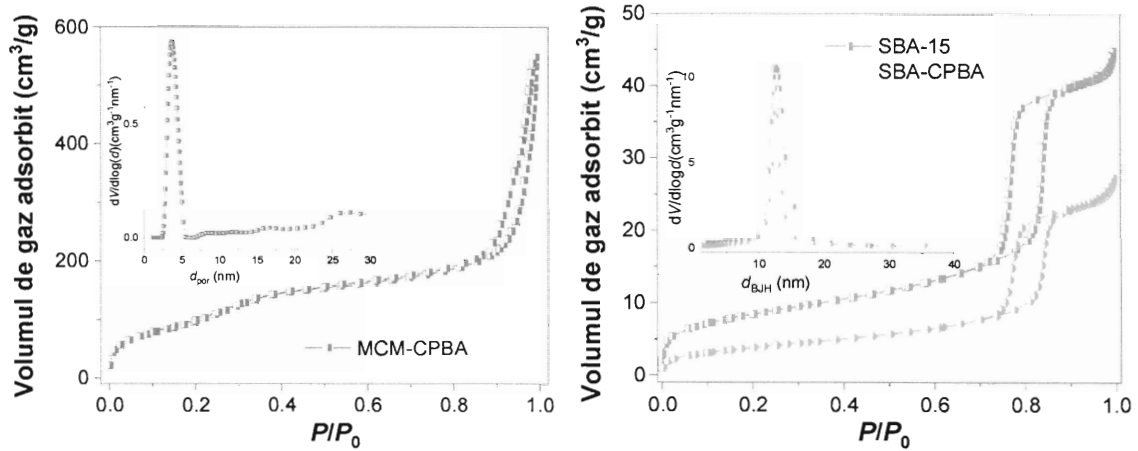


Fig. 2

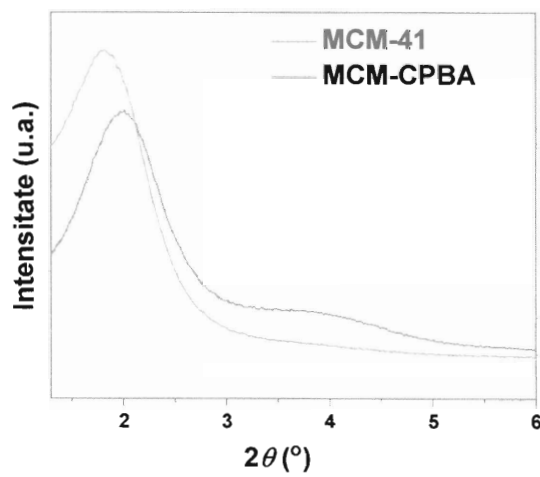


Fig. 3



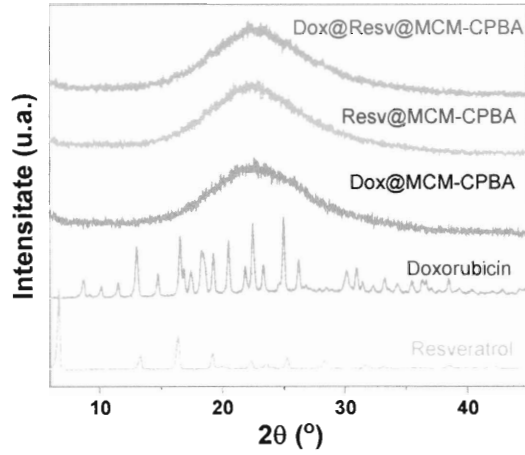


Fig. 4

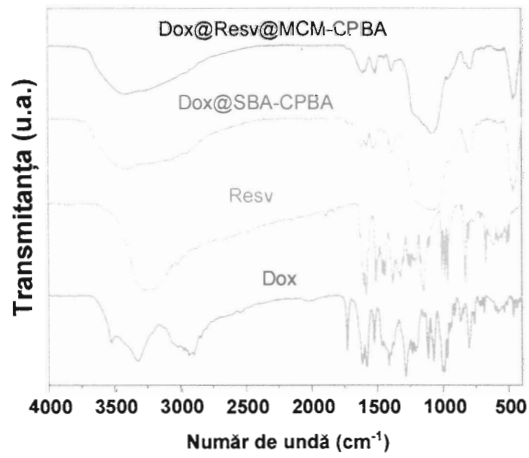


Fig. 5

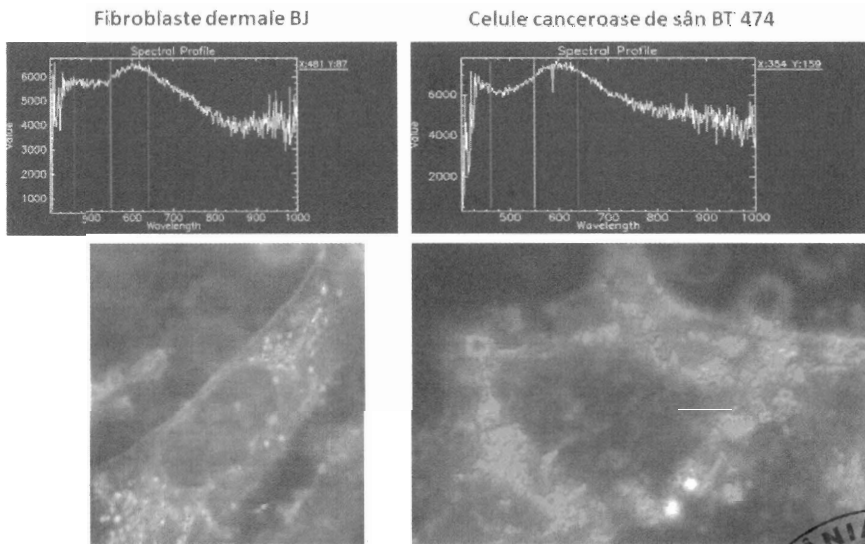


Fig. 6



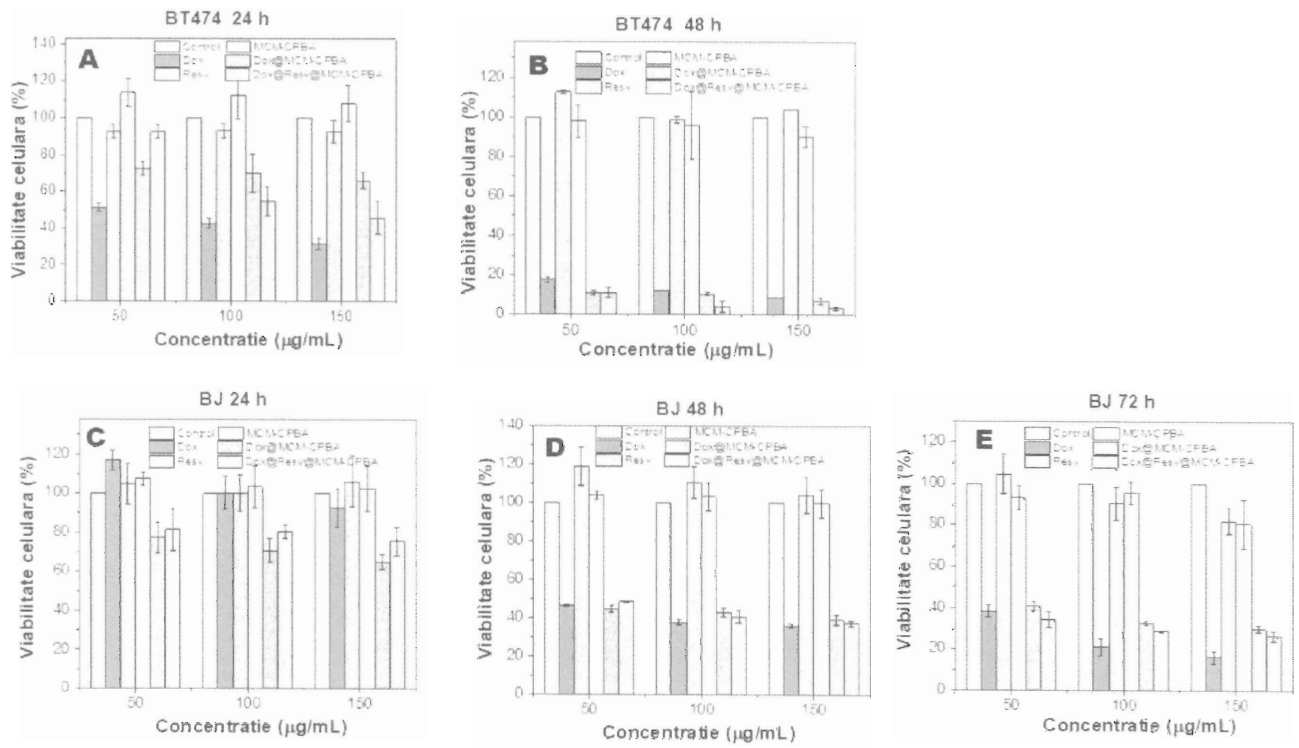


Fig. 7

