

ABSTRACTUL TEZEI DE DOCTORAT

Dezvoltarea unui sistem bazat pe transferină de transport țintit a compușilor bioactivi în celule neoplazice

Development of new drug delivery system of bioactive substances by transferrin to neoplastic cells

Cancerul continuă să rămână o problemă globală de sănătate la începutul secolului XXI. Tratamentele clinice se bazează pe chemoterapie, radioterapie și eliminarea țesutului malformat pe cale chirurgicală. Eliberarea dirijată a medicamentelor constituie un domeniu important în sănătate, fiind disponibile metode de introducere țintită a substanțelor active în diferite celule. Transferina (Tf), cunoscută în mod special pentru funcțiile de legare și transport al ionilor de fier, este un exemplu de proteină cu proprietăți multifuncționale. Lucrarea este o modestă contribuție la rezolvarea problemelor apărute la tratamentul cancerului, dezvoltând un mecanism nou de transport bazat pe transferina serică și receptorul său pentru transportul dirijat a compușilor bioactivi în celule neoplazice. Teza este alcătuită din cinci părți majore. În cadrul primei părți este prezentată motivația, obiectivele tezei și este evidențiată importanța terapiei de eliberare controlată a medicamentelor, ca un domeniu foarte important în sănătate. În partea a doua se prezintă structura transferinei serice, -situsul de legare a ionilor de fier și aplicabilitatea ei, ca o proteină adecvată în transportul intracelular a compușilor bioactivi prin sistemul de transport alcătuit din transferină-receptorul transferinei (Tf-TfR). De asemenea discută folosirea transferinei în aplicații medicale prezentând compușii care au fost legați de transferină, criteriile de selecție a anionilor citotoxici prezentând și efectele lor biologice asupra celulelor neoplazice. Ultimul capitol din partea doua prezintă avantajele folosirii tehnicilor de electroforeză capilară în separarea probelor de proteine. În cadrul părții a treia sunt prezentate materiale și metodele folosite în cadrul experimentelor. Partea a patra discută pe larg rezultatele cercetărilor originale privind modelarea moleculară a geometriei de legare a anionului aziridin-carboxilat la transferină; realizarea complexelor de transferină; analizarea acestora și determinarea eficacității reacției de complexare prin tehnici de electroforeză capilară; internalizarea complexelor; respectiv testarea lor pe culturi celulare normale și canceroase. Concluziile indică aplicabilitatea transferinei în transportul selectiv a anionilor citotoxici în celule neoplazice, prin alegerea anionilor citotoxici aziridin-carboxilat și oxalat. Complecșii sintetizați au dovedit o acțiune selectivă antiproliferativă, cea ce este semnificativ mai sensibil în cazul celulelor canceroase. Proprietatea de transport selectiv a medicamentelor cu ajutorul complexului Tf-Fe³⁺-anion a fost evidențiată atât prin metode cantitative cât și calitative, care converg. Metode de chimie analitică de înaltă performanță, metodele de biochimie și cele din domeniul fluorescenței au dovedit remarcabila capacitate a transferinei de a transporta selectiv anionii citotoxici, în celule canceroase.

At the beginning of the XXI century cancer disease still remains a global health problem. Clinical treatments rely on chemotherapy, radiotherapy and surgical removal of the malformed tissue. Drug targeting of cells is an important area in health, several methods being available for introduction of drugs into different cells. Site-specific delivery of drugs and therapeutics can significantly reduce drug toxicity and increase the therapeutic effect. Transferrins (Tf), widely known as an iron binding protein, are an example of a multi-tasking protein. This work constitutes a modest contribution in solving the problems appeared in cancer therapy, developing a new drug delivery system of bioactive substances to neoplastic cells based on the transferrin and the transferrin receptor. The present thesis consists of five major parts. The first part presents the objectives and the motivation and highlights the drug targeting systems as an important part of biomedicine. The structure of human serum transferrin, the iron binding site and the compounds conjugated to the transferrin are presented in the second part. This part also reveals the opportunity of transporting small bioactive compounds into the cells via transferrin receptor mediated endocytosis. The last two chapters describe the anion selection criteria's, and the advantages of capillary electrophoresis used in this work. The third part presents the methods and materials used during experiments. The fourth part is dedicated to the obtained results and describes the molecular docking of aziridine-carboxylate to the human serum transferrin, complexation reaction, and separation of transferrin complexes by capillary electrophoresis techniques, determination of the efficiency of complexation reaction, the internalization of complexes and the evaluation of cytotoxic effect against cancer and normal cell line. The conclusion part highlights the applicability of transferrin in selective delivery of aziridine-carboxylate and oxalate anions into neoplastic cells. The transferrin complexes display a selective antiproliferative action, their effect being significantly higher in tumoral cells. Drug transporter properties of Tf-Fe³⁺-anion complexes were evidenced by qualitative and quantitative methods, which converged. Merging methods provided by the analytical chemistry field and the bio-chemical and -fluorescence area prove that this new type of Tf-complexes may take part in drug delivery system based on the transferrin-transferrin receptor complex and its transport via receptor mediated endocytosis.