Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București
Școala Doctorală de Inginerie Chimică și Biotehnologii
Departamentul de Știința și Ingineria Materialelor Oxidice și Nanomaterialelor

Teză de doctorat

Sisteme mezoporoase încărcate cu polifenoli și extract natural de Melissa officinalis cu activitate antimicrobiană
-Rezumat-

Coordonator științific:
Prof. dr. ing. Anton Ficai

Doctorand:
Ing. chim. Gabriela Alexandru (Petrișor)

București
2024

CUPRINS

Lista cu abrevieri 3
I. STUDIUL CRITIC AL DATELOR DIN LITERATURĂ 4
Capitolul 1. Cercetări privind silicea mezoporoasă și progresele recente în aplicații biomedicale 4
II. CONTRIBUȚII ORIGINALE 6
Capitolul 2. Materiale și Metode 6
Capitolul 3. Obiectivele tezei și originalitatea 6
Capitolul 4. Articole de cercetare publicate 7
4.1. *Melissa officinalis*: Composition, Pharmacological Effects and Derived Release Systems- A Review 7
4.2. Mesoporous Silica Materials Loaded with Gallic Acid with Antimicrobial Potential 8
4.5. The Antimicrobial Potency of Mesoporous Silica Nanoparticles Loaded with *Melissa officinalis* Extract 18
Capitolul 5. Concluzii generale 21
Capitolul 6. Perspective de viitor 22
Capitolul 7. Diseminare 23
7.1 Lista publicațiilor 23
7.2 Participari la conferințe si workshop-uri 24
7.3 Premii 26
7.4 Cerere de brevet 27
7.5 Alte activități 27
Bibliografie selectivă 27

Cuvinte cheie: silice mezoporoasă, 3-aminopropiltrietoxisilan, polifenoli, extract *Melissa officinalis*, fluide biologice simulate, activitate antimicrobiană.

Lista cu abrevieri

DDS – Sisteme cu eliberare controlată

MSNs – Nanoparticule de silice mezoporoasă

MCM – Mobil Composition of Matter

CTAB – bromură de N-cetyl-N,N,N-trimetilamoniu

TEOS – tetraetil ortosilicat

APTES – (3-aminopropil)trietoxisilan

GA –acid galic

FA – acid trans-ferulic

CA – acid cafeic

p-CA – acid p-coumaric

CAT – Catechina

MO – *Melissa officinalis*

MOE – extract de *Melissa officinalis*

NaCl – clorură de sodiu

TFA – acid trifluoroacetic

NaOH – hidroxid de sodiu

HCl – acid clorhidric

KH_2PO_4 – fosfat acid de potasiu

SEM – Scanning electron microscopy / Microscopie Electronică de Baleiaj

FTIR–Fourier transform infrared spectroscopy/Spectroscopie în Infraroşu cu Transformată Fourier

ATR – Attenuated Total Reflectance

XRD – Powder X-ray diffraction – Difractie de raze X

TEM – Transmission electron microscopy / Microscopie Electronică prin Transmisie

HRTEM – High-Resolution Transmission Electron Microscope / Microscopie Electronică prin Transmisie de Rezoluţie Înaltă

TGA – Thermogravimetric analysis / Analiză Termogravimetrică

DSC – Differential scanning calorimetry / calorimetrie diferenţială de scanare

HPLC-DAD – High Performance Liquid Chromatography with Array Diode Detector

BET – Brunauer–Emmett–Teller

EDS – Energy Dispersive Spectroscopy

I. STUDIUL CRITIC AL DATELOR DIN LITERATURĂ

Capitolul 1. Cercetări privind silicea mezoporoasă și progresele recente în aplicații biomedicale

Pe baza cercetărilor recente au fost dezvoltate sisteme noi capabile să fie încărcate cu substanțe active, medicamente sau extracte naturale. Aceste cercetări au vizat dezvoltarea de sisteme cu eliberare controlată ce au proprietatea de a asigura o livrare a medicamentului direct la organul țintă [1-3]. Nanopurtătorii pot fi clasificați în funcție de natura substanțelor din care pot fi sintetizați (organici sau anorganici) și se găsesc sub formă de micelii, lipozomi, hidrogeluri, vezicule, nanoparticule lipidice solide, dendrimeri, nanotuburi de carbon, nanoparticule de metal, nanoparticule de silice mezoporoasă, nanoparticule polimerice etc. [4-8] (Figura 1).

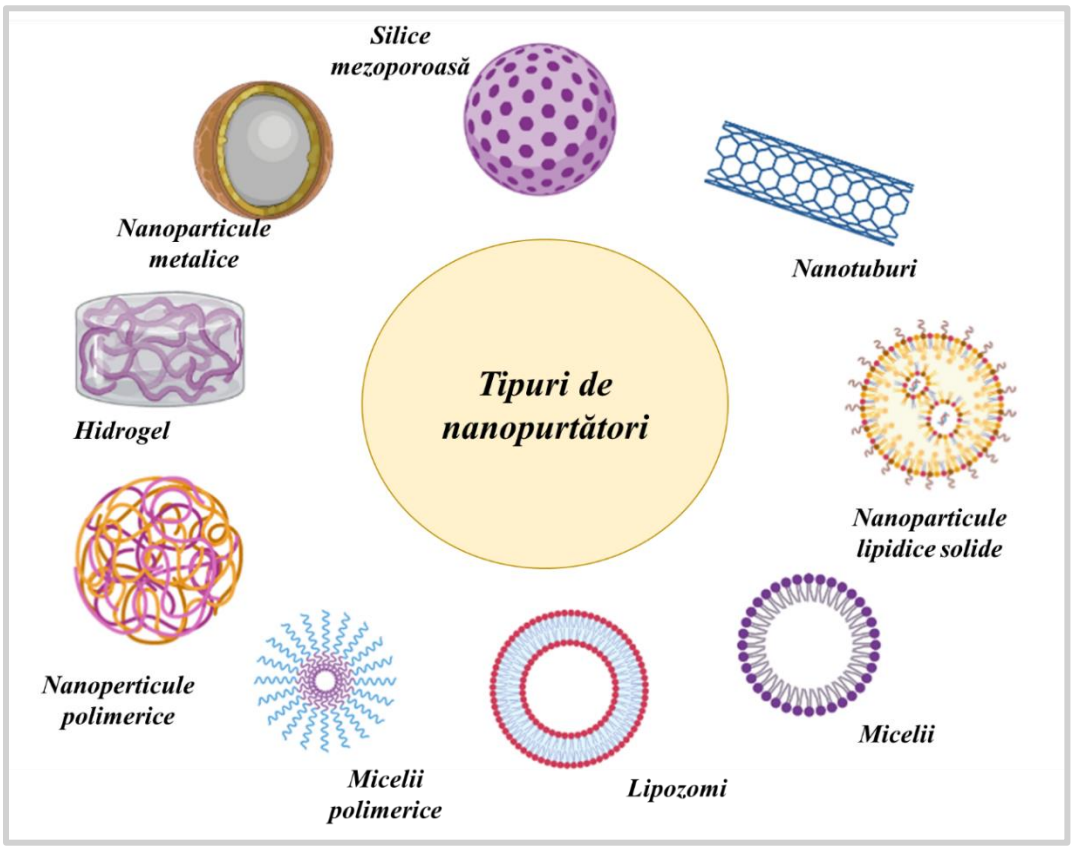


Figure 1. *Tipuri de nanopurtători (realizat cu BioRender.com)*

Nanoparticulele de silice mezoporasă (MSNs) au atras atenția multor cercetători datorită structurii sale ce le face aplicabile în multe domenii. Una dintre aplicațiile principale ale MSNs

este de a fi utilizate ca material transportor în sistemele cu eliberare controlată. Prin ajustarea și controlul proprietăților MSNs, procesul de livrare poate fi adaptat pentru livrare eficientă și obținerea efectului terapeutic dorit. Conform structurii bine definite a MSNs și a suprafeței active care conține multe grupări silanol (Si-OH), acestea permit legarea diferitelor grupări funcționale de natură organică. Funcționalizarea organică se face prin legarea grupărilor funcționale amino (-NH_2), tiol (-SH) sau carboxi (-COOH) pentru a obține anumite caracteristici de suprafață ale MSNs.

O mare provocare reprezintă alegerea sistemului transportor și a substanței sau medicamentului ce pot fi încărcate deoarece trebuie să existe compatibilitate și să aibă activitatea biologică dorită.

Plantele medicinale sunt o sursă bogată de compuși bioactivi care pot fi utilizați pentru dezvoltarea de noi medicamente [9]. Substanțele active se găsesc în diferite părți ale plantelor și compușii activi pot fi extrași din majoritatea plantelor medicinale care au efecte terapeutice directe sau efecte terapeutice indirecte.

Polifenolii naturali se găsesc în multe plante și prezintă un mare interes pentru medicină datorită activităților lor farmacologice multiple precum anticancerigen, antioxidante, antimicrobiene și multe altele [10-13]. Structura polifenolilor (datorită grupărilor hidroxi) este responsabilă pentru o bună interacțiune între aceștia și o mare varietate de substanțe active.

Având în vedere multiplele proprietăți biologice ale substanțelor naturale, precum și o bună compatibilitate între acestea și materialele din care sunt fabricați nanopurtătorii, dezvoltarea unor sisteme pe bază de substanțe biologic active reprezintă o strategie importantă de studiat.

În această teză, am studiat sistemele cu eliberare controlată cercetate până în prezent ce au la bază silicea mezoporoasă ca sistem transportor, încărcate și funcționalizate cu diferite substanțe active, medicamente sau extracte naturale. În baza studiului de literatură am realizat un review de cercetare a plantei medicinale *Melissa officinalis*.

În urma studiului de literatură, am sintetizat două tipuri de silice mezoporoasă cu scopul principal de a proiecta noi sisteme de eliberare a medicamentelor. MSNs au fost funcționalizate cu (3-aminopropil)trietoxisilan (APTES)și încărcate cu polifenoli (acid galic, acid cafeic, acid para-cumaric, acid trans-ferulic și catechina) și extract natural de *Melissa officinalis*, substanțe bioactive naturale cu proprietăți antimicrobiene și antioxidante. cu diverse aplicaţii în domeniul biomedical.

II. CONTRIBUȚII ORIGINALE

Capitolul 2. Materiale și Metode

În acest capitol sunt descrise materialele și metodele utilizate în sinteza silicei mezoporoase de tip MCM-41 și MCM-48, cât și în sinteza de funcționalizare cu APTES. Au fost descrise metodele de încărcare a materialelor mezoporoase obținute cu polifenoli (GA, CA, p-CA, FA și CAT) și extract hidroalcoolic de *Melissa officinalis*.

Acest capitol include descrierea metodelor și a echipamentelor utilizate în caracterizarea sistemelor obținute și a testelor de eliberare efectuate în două tipuri de fluide biologice simulate.

Capitolul 3. Obiectivele tezei și originalitatea

Noutatea acestui studiu constă în dezvoltarea unor sisteme care conțin nanopurtători de silice mezoporoasă, MCM-41/48, încărcați cu polifenoli (GA, FA, CA, p-CA și CAT), dar și cu extract natural de Melissa officinalis.

Pornind de la obiectivul principal al acestei teze de doctorat de a obține materiale mezoporoase încărcate cu polifenoli și extract natural, am definit următoarele obiective generale:

Primul obiectiv a fost de a sintetiza nanoparticulele de silice mezoporoasă și de a le încărca cu polifenoli.

Al doilea obiectiv a fost de a funcționaliza cele două tipuri de silice mezoporoasă cu APTES și de a încărca materialele cu acidul trans-ferulic pentru a observa diferențele dintre profilurile de eliberare ale acidului trans-ferulic în doua fluide biologice simulate.

În urma studiului de literatură asupra extractului natural de Melissa officinalis am setat al treilea obiectiv de a dezvolta materiale din silice mezoporoasă încărcate cu extract natural de Melissa officinalis.

După obținerea tuturor materialelor, am considerat ca al patrulea obiectiv să caracterizez din punct de vedere morfologic și structural sistemele obținute.

Ultimul obiectiv general a constat în testarea proprietăților și stabilirea posibilelor utilizări ale materialelor obținute în aplicații biomedicale.

Capitolul 4. Articole de cercetare publicate

4.1. *Melissa officinalis*: Composition, Pharmacological Effects and Derived Release Systems- A Review

Acest articol reprezintă un studiu de literatură asupra plantei medicinale *Melissa officinalis* privind compoziția, efectele farmacologice și sistemele de eliberare derivate. Studiile chimice privind compoziția plantei *Melissa officinalis* au arătat că aceasta conține în principal flavonoide, terpenoide, acizi fenolici, taninuri și ulei esențial. *Melissa officinalis* este considerată o plantă medicinală datorită numeroaselor efecte farmacologice asociate compoziției chimice (Figura 2). Cele mai multe studii s-au concentrat pe extractele din frunze de *Melissa officinalis* obținând profiluri fenolice corelate cu efectele: antiproliferativ, antiangiogenic, antioxidant, antidepresiv, anti-Alzheimer, cardioprotector, antimicrobian etc.

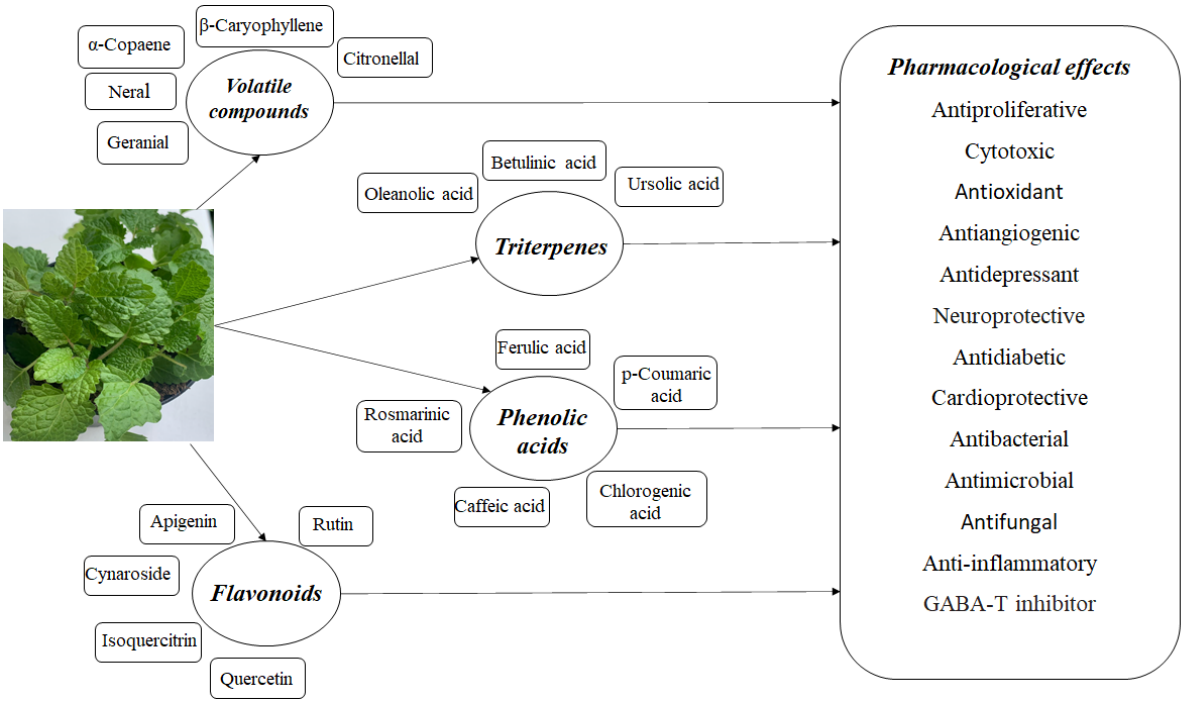


Figura 2. *Compoziția și efectele farmacologice ale plantei Melissa officinalis*

Lucrarea reprezintă un studiu detaliat asupra efectelor farmacologice ale diferitelor tipuri de extracte și uleiuri esențiale din *Melissa officinalis*. Articolul prezintă doze echivalente umane estimate aferente dozelor și concentrațiilor determinate în articolele de cercetare. În ultima parte a articolului se regăsește o sumarizare a sistemelor cu eliberare controlată ce conțin atât substanțe

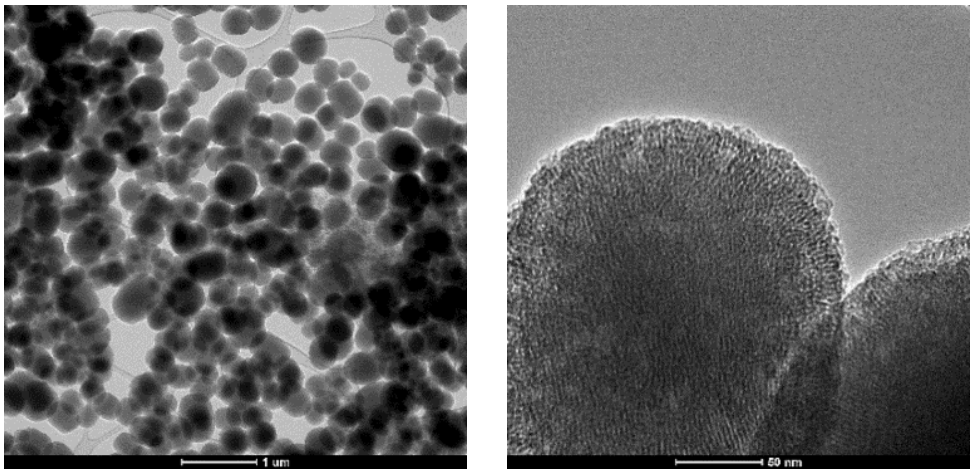
ce se regăsesc in compoziția *Melissei officinalis*, cât și diferite tipuri de sisteme cu eliberare controlată dezvoltate până în prezent ce conțin extract de *Melissa officinalis*.

Această revizuire prezintă o perspectivă largă asupra compoziției plantei medicinale *Melissa officinalis*, cât și a efectelor farmacologice atribuite în principal prezenței unei cantități ridicate de compuși polifenolici. Au fost raportate studii privind compoziția chimică a uleiului esențial și multe tipuri de extracte și, în funcție de zonă, perioadă și metoda de recoltare a plantei, s-au obținut diferite concentrații de substanțe active. Prin investigarea mecanismelor de acțiune și a farmacocineticii extractelor și compușilor activi se pot obține noi sisteme cu activități biologic active pentru organismul uman și mediul înconjurător. Sistemele cu eliberare controlată dezvoltate până în prezent reprezintă o perspectivă de viitor pentru dezvoltarea de noi sisteme.

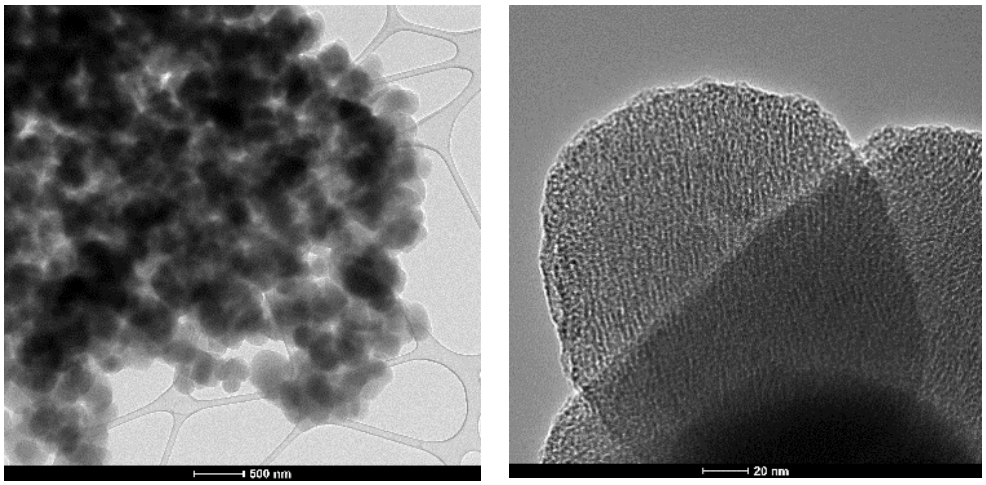
4.2. Mesoporous Silica Materials Loaded with Gallic Acid with Antimicrobial Potential

În acest articol de cercetare, am sintetizat două tipuri de silice mezoporoasă, MCM-41 și MCM-48, prin metoda clasică de tip șablon pornind de la cantități diferite de CTAB. Materialele obținute au fost încarcate sub vid cu trei cantități diferite de acid galic: 0.41 g (1), 0.82 g (2), 1.21 g (3), obținând în final 6 tipuri de sisteme mezoporoase încărcate.

MCM-41 și MCM-48 au fost analizați prin TEM, observându-se structura mezoporoasă a materialelor și dimensiunea cu distribuția uniformă a particulelor.



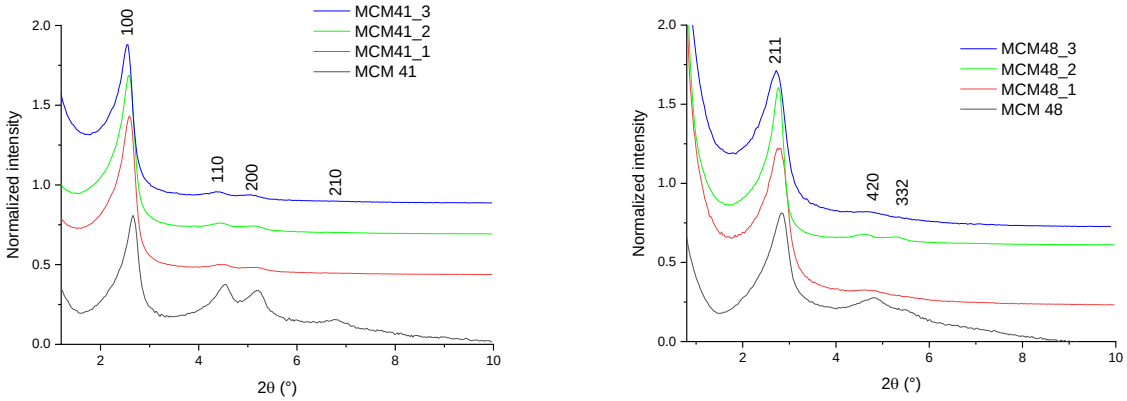
MCM-41



MCM-48

Figura 3. *Imaginile TEM ale suporturilor mezoporoase*

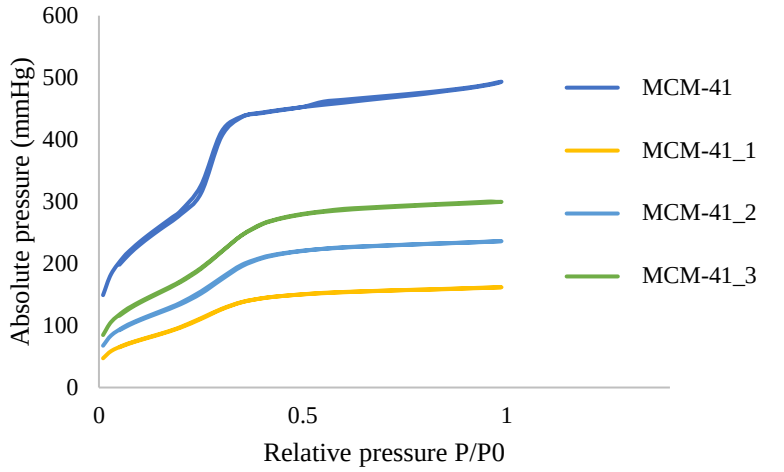
Toate materialele au fost analizate prin Difracția de raze X, observandu-se că toate difractogramele înregistrate pe materialele mezoporoase de tip MCM-41 (Figura 4, a) prezintă prezintă patru vârfuri de difracție corespunzătoare planurilor de cristalizare (100), (110), (200) și (210) caracteristice structurii hexagonale ordonate caracteristice materialului MCM-41. Difractogramele înregistrate pe materialele mezoporoase MCM-48 prezintă două vârfuri majore corespunzătoare planurilor de cristalizare (211), (420) și un vârf minor, corespunzător planului (332), în condordanță cu datele din literatură (Figura 4, b).



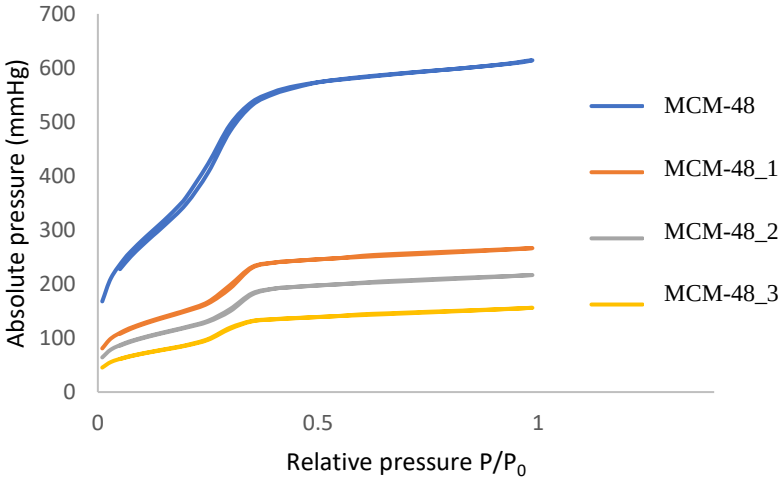
a) b)

Figura 4. *Difractogramele XRD ale probelor: a) MCM-41, MCM-41_1, MCM-41_2, MCM-41_3; b) MCM-48, MCM-48_1, MCM-48_2, MCM-48_3*

Materialele au fost supuse analizei BET, obținându-se curbele de adsorbție/desorbție din care se observă că toate materialele prezintă izoterme de tip IV reversibile, ceea ce indică că materialele au o structură ordonată a porilor. Din rezultatele caracteristice porilor am observat o scădere semnificativă a suprafeței specifice BET, cât și a volumului porilor față de MCM-41 și MCM-48 neîncăcate ceea ce înseamnă că polifenolii au fost adsorbiți în mare parte în pori.



a)

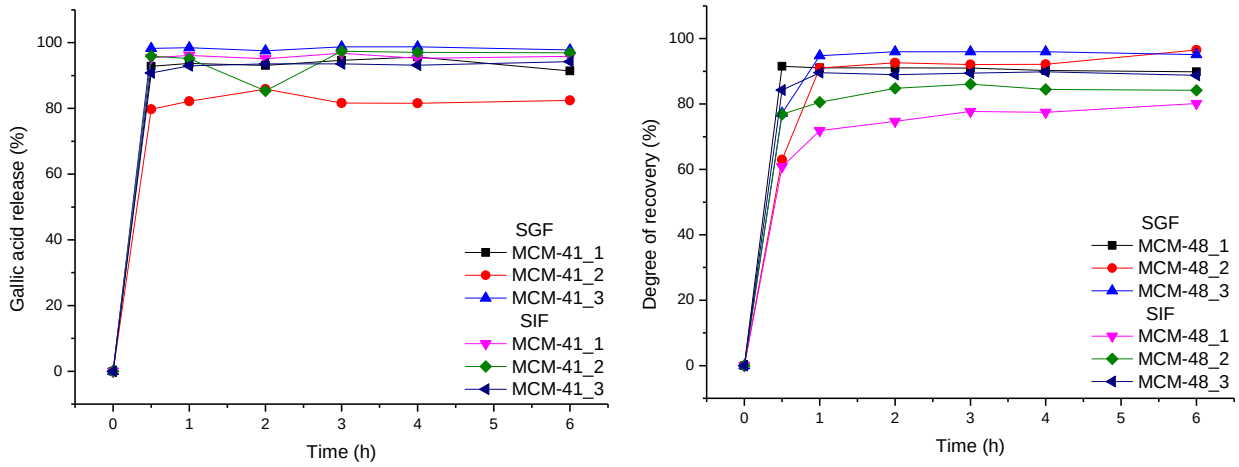


b)

Figura 5. *Izoterme de adsorbție/desorbție înregistrate pe materiale: a) MCM-41, MCM-41_1-3 and b) MCM-48, MCM-48_1-3*

În cadrul acestui articol, materialele obținute au fost analizate prin SEM, FT-IR și TG-DSC din care am obținut rezultate foarte bune observând morfologia sferică a particulelor de silice cu dimensiuni de 200-400 nm și de asemenea a fost evidențiată încărcarea nanoparticulelor cu diferitele cantități de acid galic.

Materialele încărcate cu acid galic au fost supuse testelor de eliberare în două fluide biologice simulate cu pH diferit (fluid gastric simulat (SGF) cu pH=1.2 și fluid intestinal simulat (SIF) cu pH=6.8) prin care s-au observat profilurile de eliberare diferite ale acidului galic. Acidul galic a fost eliberat diferit din cele 6 materiale deoarece parametrii precum cantitatea de substanță încărcată, tipul de material încărcat și tipul de fluid biologic simulat au influențat profilul de eliberare (Figura 6).



(a) (b)

Figura 6. *Eliberarea acidului galic din suporturile mezoporoase de tip (a) MCM-41, (b) MCM-48 în SGF și SIF*

După ce materialele au fost caracterizate și am observat că încărcarea cu acid galic a fost eficientă, nanoparticulele au fost supuse testelor biologice prin care au fost evaluate efectele antibacteriale ale acidului galic, viabilitatea celulară, activarea inflamasomului și activarea apoptozei.

4.3. New Mesoporous Silica Materiald Loaded with Polyphenols: Caffeic Acid, Ferulic Acid and p-Coumaric Acid as Dietary Supplements for Oral Administration

În acest articol de cercetare am pornit de la materialele mezoporoase sintetizate anterior de tip MCM-41 și MCM-48 și le-am încărcat sub vid cu trei tipuri de polifenoli: acid cafeic, acid para-coumaric și acid trans-ferulic. Din analizele acestora am observat că materialele au fost încărcate cu polifenoli diferit și au avut profiluri de eliberare diferite, deși am folosit aceeași

cantitate de polifenol. Aceste diferențe dintre materiale se pot datora faptului că structura polifenolilor este diferită și solubilitățile acestora diferă.

Din analizele BET, SEM și TG-DSC am observat că materialele mezoporoase au fost încărcate cu polifenoli și că au o structură mezoporoasă ordonată, cu dimensiuni ale particulelor ușor variabile între 150-400 nm.

În urma analizei FT-IR au fost obținute spectrele de absorbție ale sistemelor, observând că în toate spectrele de absorbție se regăsesc benzile de absorbție specifice vibraţiilor de întindere ale unităţilor asimetrice Si-O-Si, vibraţiilor de deformare ale unităţilor Si-O-Si și grupărilor silanolice specifice silicei mezoporoase.

În spectrele de absorbție ale materialelor încărcate cu polifenoli apar benzile de absorbție specifice grupărilor -OH și a grupărilor carbonil ceea ce ne indică prezența structurilor organice ale polifenolilor (Figura 7 și 8).

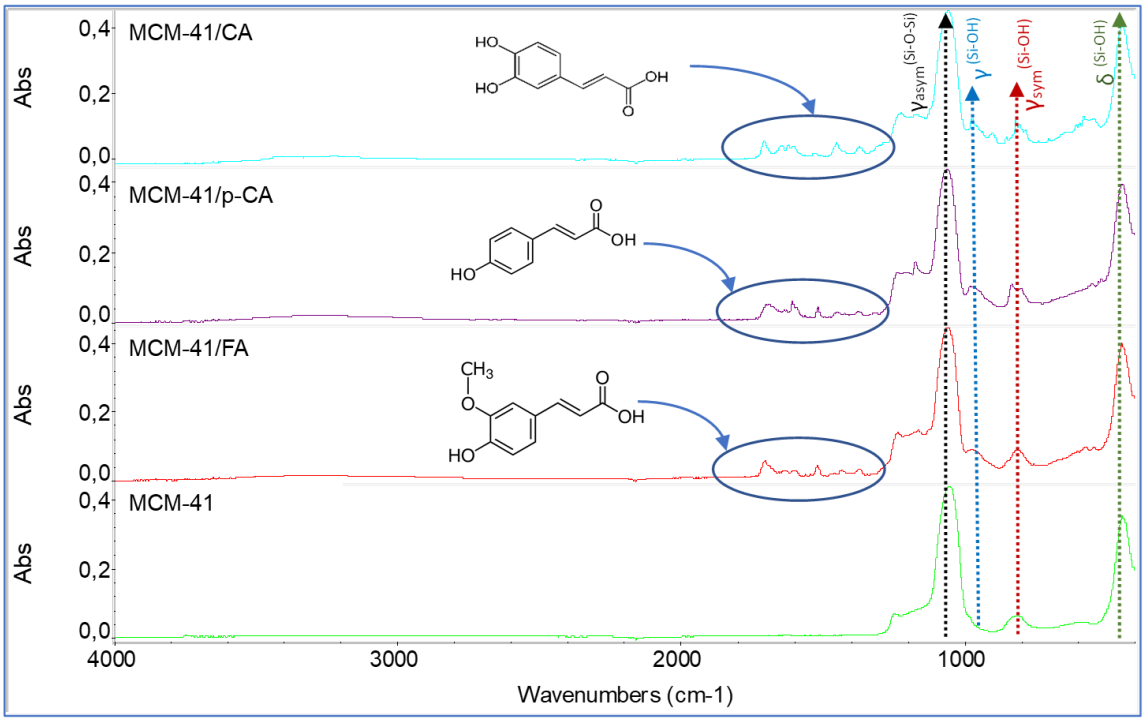


Figura 7. *Spectrele FTIR ale materialelor MCM-41, MCM-41/CA, MCM-41/p-CA, MCM-41/FA*

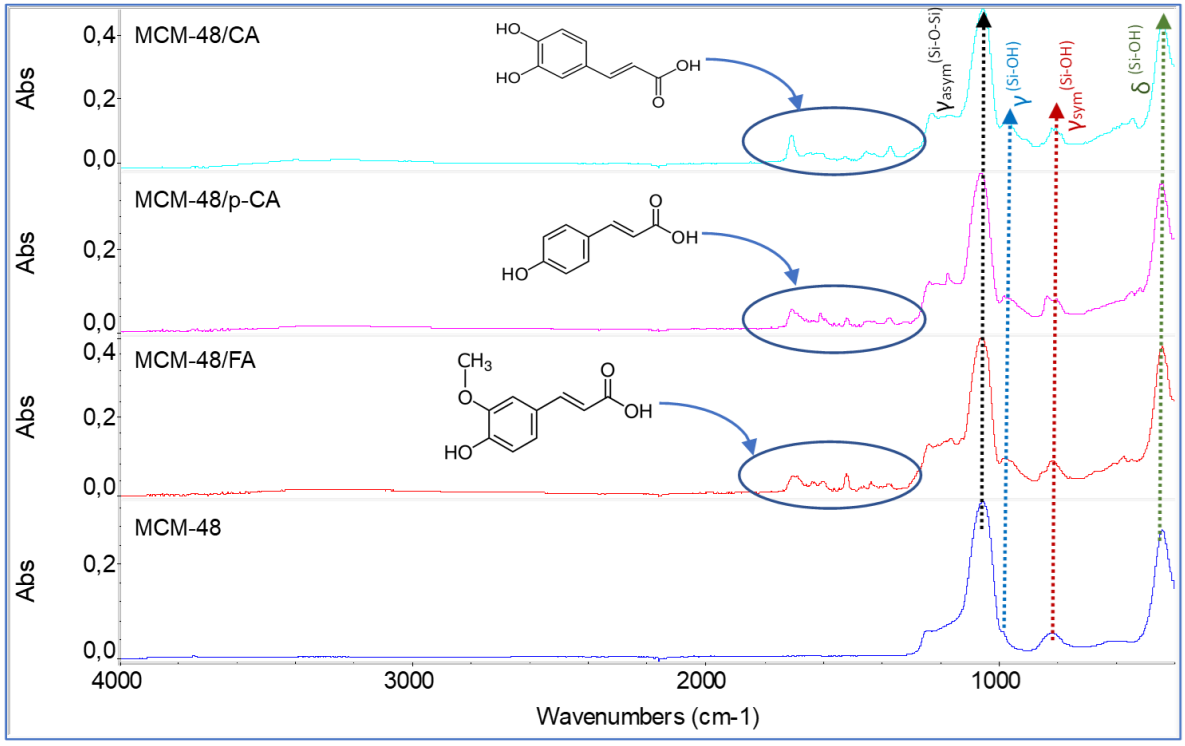


Figura 8. *Spectrele FTIR ale materialelor MCM-48, MCM-48/CA, MCM-48/p-CA, MCM-48/FA*

În cadrul acestui studiu de cercetare am realizat studiile de eliberare ale polifenolilor din matricea mezoporoasă în două fluide biologice simulate cu pH diferit (SGF cu pH=1.2 și SIF cu pH=6.8). Eliberările au fost monitorizate timp de 2 ore în SGF și 6 ore în SIF, observând diferite profiluri de eliberare ale polifenolilor (Figura 9).

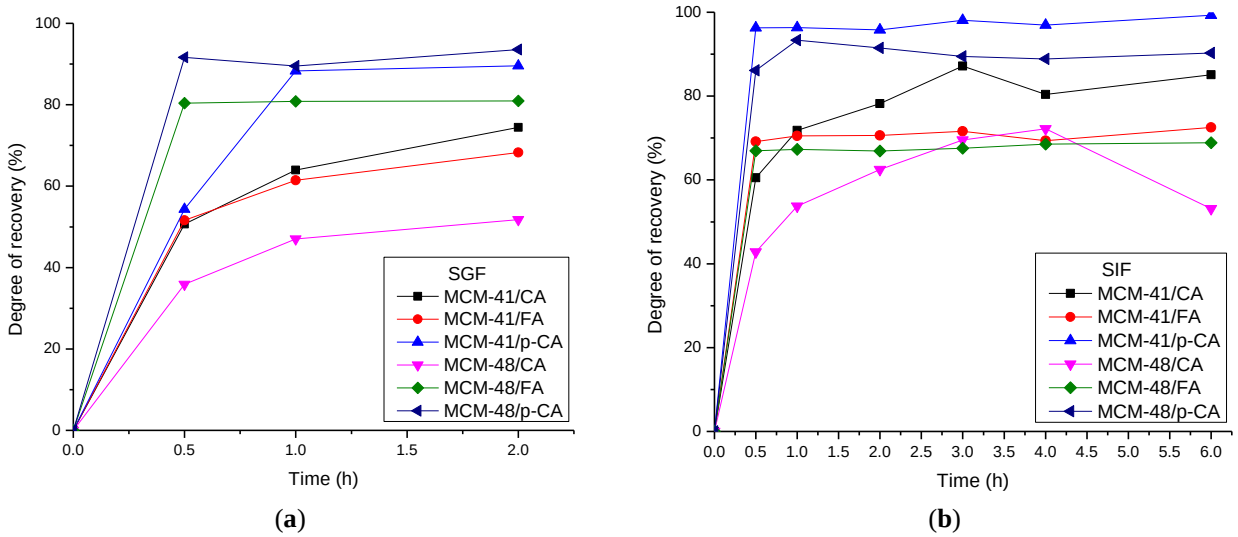


Figura 9. *Profilurile de eliberare ale polifenolilor în a) SGF și b) SIF*

4.4. Increasing Bioavailability of trans-Ferulic Acid by Encapsulation in Functionalized Mesoporous Silica

În cadrul acestui articol de cercetare am luat în considerare rezultatele obținute anterior și am ales să funcționalizez cu 3-aminopropiltrietoxisilan (APTES) materialele mezoporoase MCM-41 și MCM-48 prin metoda post-grefare și să încarc materialele funcționalizate sub vid cu acid trans-ferulic (Figura 10).

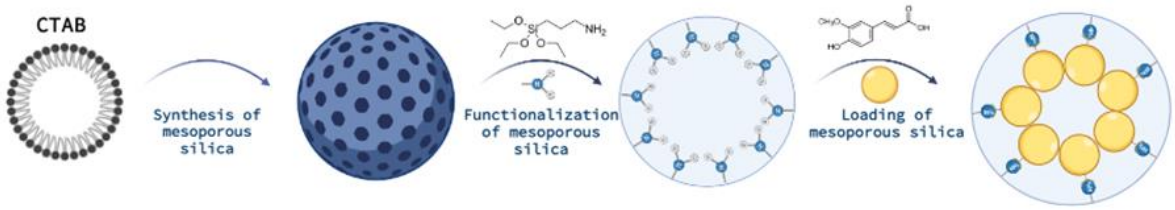
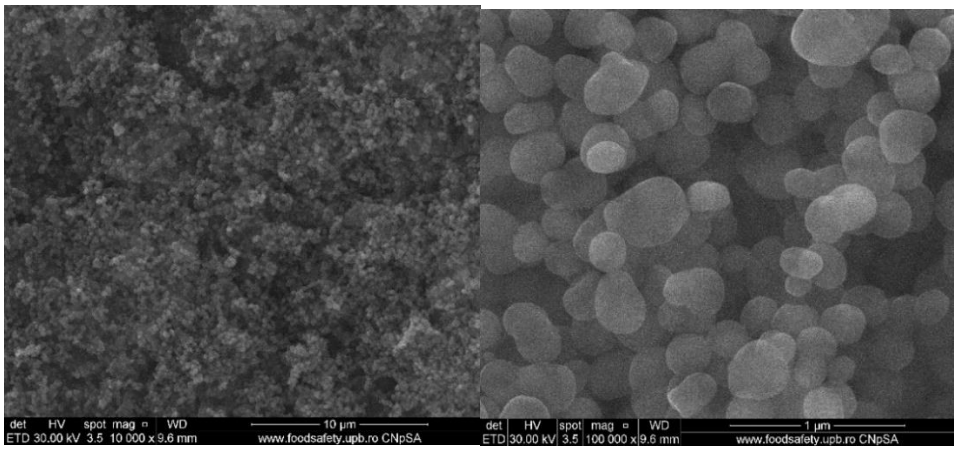
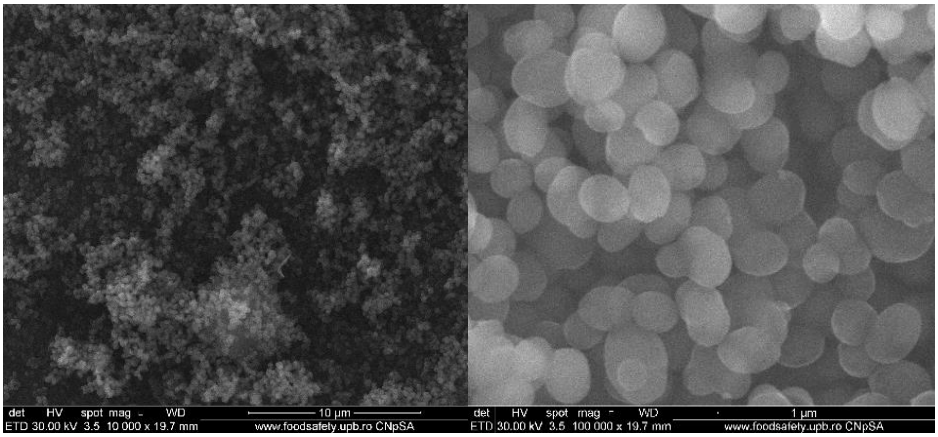


Figura 10. *Sinteza sistemelor mezoporoase funcționalizate încărcate cu FA*

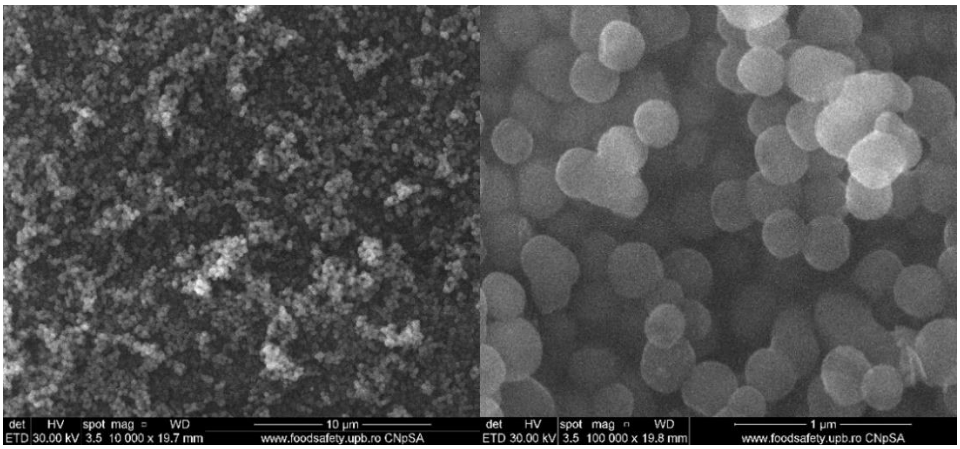
Prin analiza SEM am observat că materialele și-au păstrat structura mezoporoasă, cu dimensiuni ale particulelor între 150-400 nm.



MCM-41



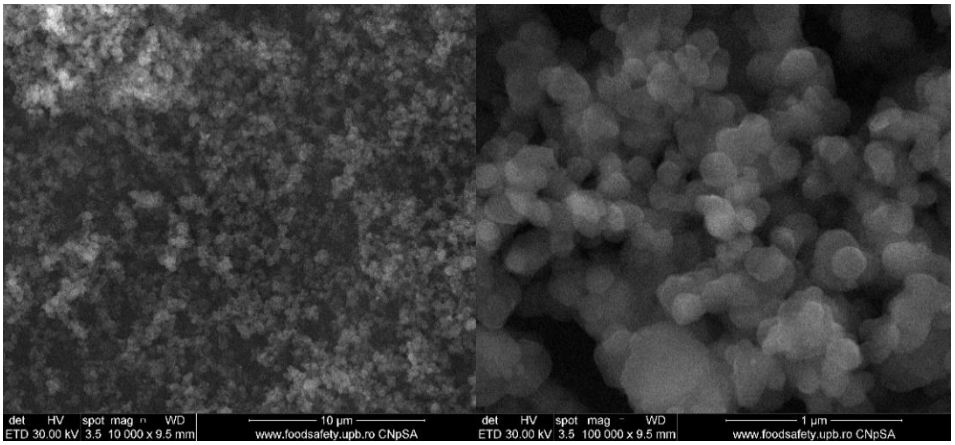
MCM-41_FA



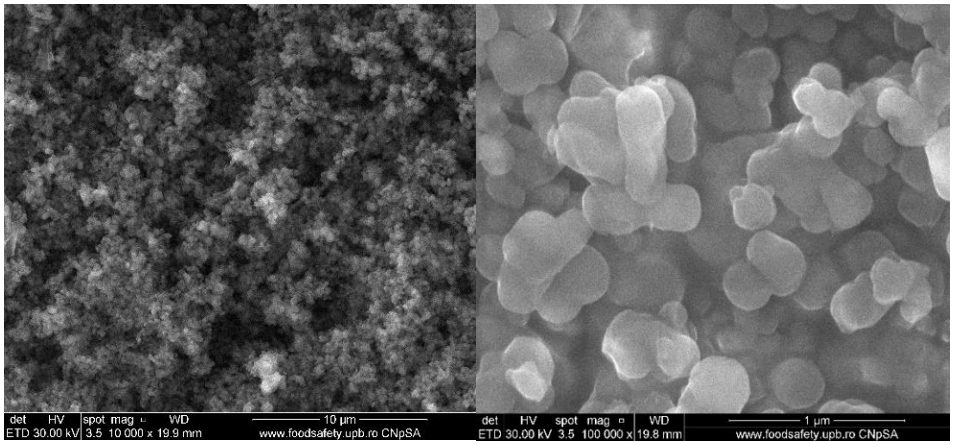
MCM-41_APTES_FA

Figura 11. *Imagini SEM ale materialelor mezoporoase de tip MCM-41 încărcate cu FA*

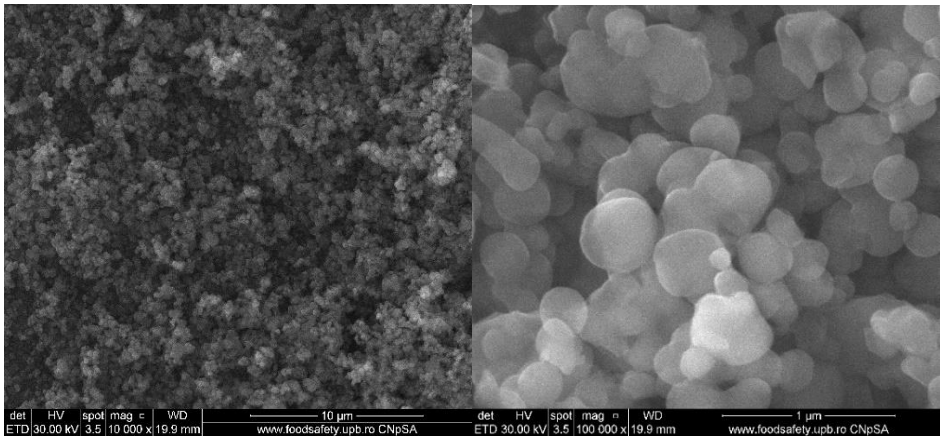
Nanoparticulele ce au ca suport mezoporos MCM-41 își păstrează forma sferică și uniformitatea după funcționalizare cu APTES și încărcarea cu FA (Figura 11). În cazul nanoparticulelor ce au ca suport mezoporos MCM-48, acestea au o formă cvasisferică și au o tendință de aglomerare după încărcarea cu FA (Figura 12).



MCM-48



MCM-48_FA



MCM-48_APTES_FA

Figura 12. *Imagini SEM ale materialelor mezoporoase de tip MCM-48 încărcate cu FA*

Rezultatele analizelor XRD și BET au arătat că sistemele obținute își păstrează structura mezoporoasă după funcționalizare și dimensiunea porilor se reduce semnificativ după încarcarea cu FA ceea ce înseamnă că a avut loc o încărcare eficientă în interiorul porilor. În spectrele de absorbție FT-IR am observat atât benzile de absorbție specificei silicei, cât și benzile de absorbție specifice grupărilor NH_2, OH și C=O.

Analiza termogravimetrică a sistemelor obținute ne-a indicat o funcționalizare reușită cu APTES observând în diagramele TG-DSC un efect termic puternic înregistrat la 300^{o}C (Figura 13 și 14).

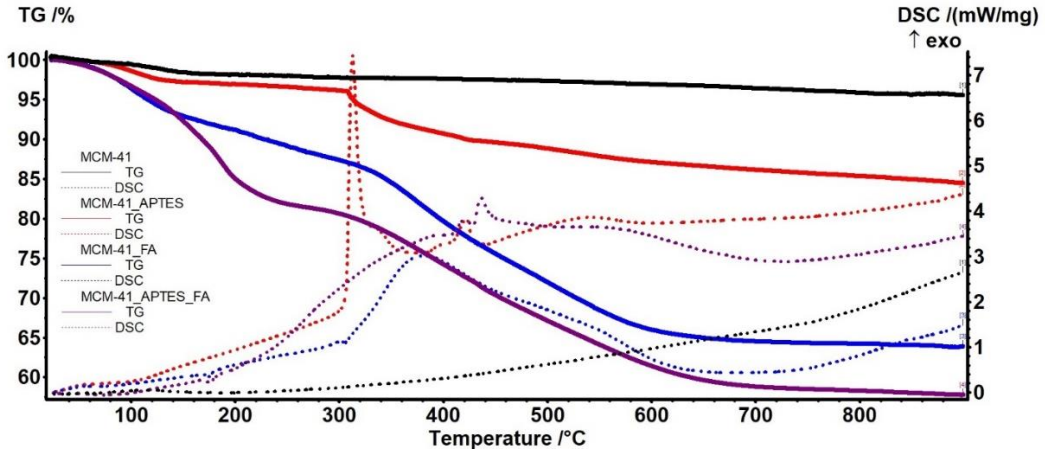


Figura 13. *Curbele TG-DSC ale materialelor mezoporoase de tip MCM-41*

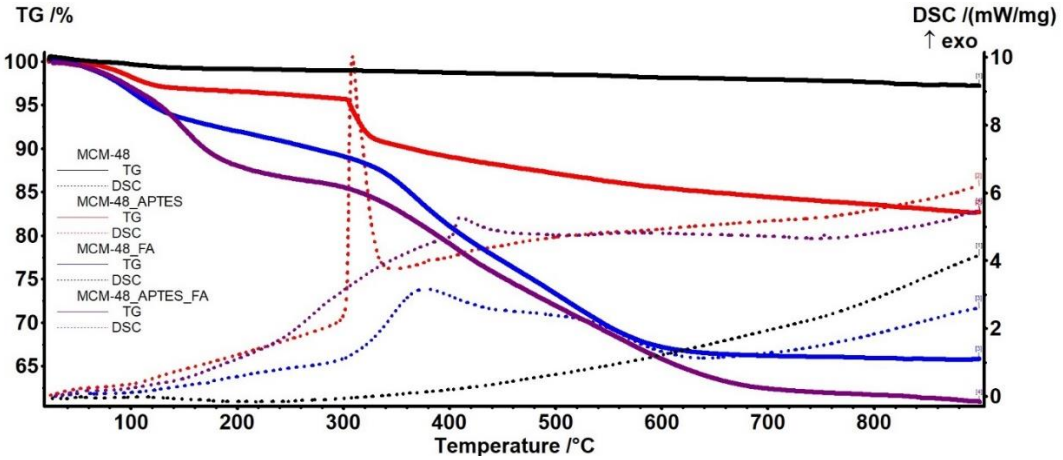


Figura 14. *Curbele TG-DSC ale materialelor mezoporoase de tip MCM-48*

Pentru a observa comportamentul sistemelor funcționalizate, am ales sa studiez eliberarea FA în două fluide biologice simulate, SGF și SIF. Materialele nefuncționalizate au avut o eliberare rapidă încă din primele 30 minute spre deosebire de materialele funcționalizate în care am obținut profile cu o eliberare lentă a FA și cu o cantitate redusă după 20 de ore (Figura 15). Din aceste studii de eliberare am observat că funcționalizarea cu grupări amino modifică semnificativ profilele de eliberare ale substanțelor active încărcate, ceea ce înseamnă că materialele pot avea aplicabilitate în sistemele cu eliberare controlată funcție de acțiunea dorită.

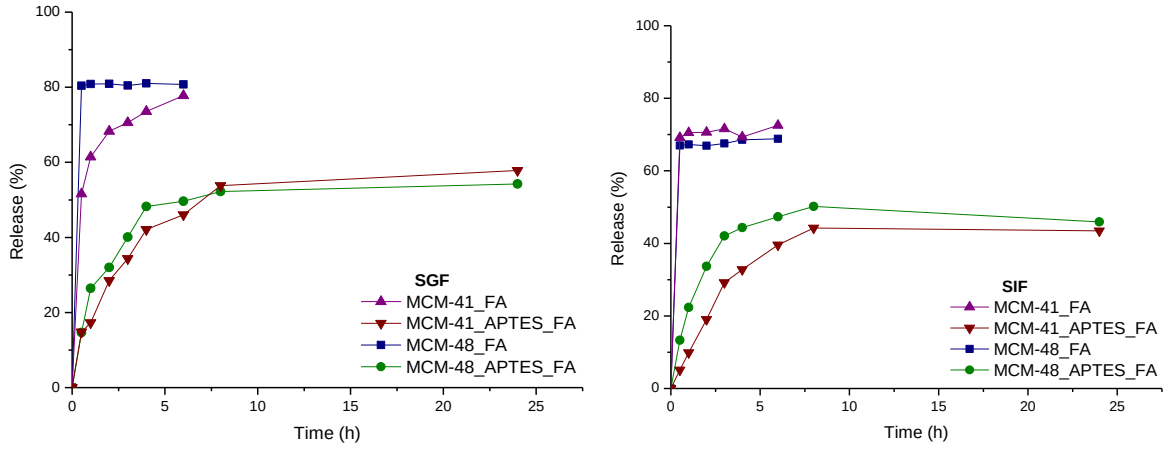


Figura 15. *Profilele de eliberare ale FA din sistemele obținute în SGF și SIF*

Sistemele obținute au fost testate pentru a evalua activitatea antimicrobiană pe patru tulpini de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 și *Candida albicans* ATCC 1023. Dintre toate probele studiate, MCM-41_APTES_FA a împiedicat aderarea tulpinilor patogene la substratul inert, respectiv, dezvoltarea biofilmului matur și stabil, și prezentând cel mai pronunțat efect inhibitor.

4.5. The Antimicrobial Potency of Mesoporous Silica Nanoparticles Loaded with *Melissa officinalis* Extract

Originalitatea acestui articol constă în obținerea de MSNs încărcate cu extract natural de Melissa officinalis (MOE). Extractul natural de Melissa officinalis este un extract hidroalcoolic concentrat astfel încât să aibă o concentrație ridicată de acid rosmarinic și o cantitate ridicată de compuși polifenolici. Extractul concentrat a fost încărcat în MSNs sub vid, în mai multe etape, obținând patru tipuri de materiale încărcate cu extract: MCM-41@MOE, MCM-41@APTES@MOE, MCM-48@MOE și MCM-48@APTES@MOE.

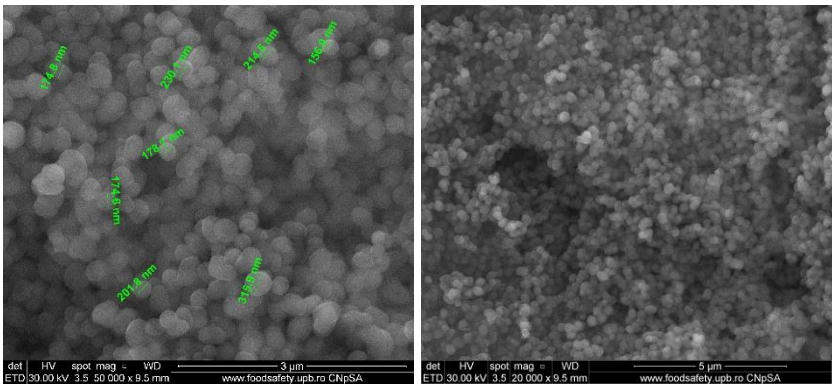
Sistemele obținute au fost caracterizate din punct de vedere morfologic și structural observând că toate materialele își păstrează structura mezoporoasă. În urma analizei BET am observat ca materialele și-au redus suprafața specifică BET și volumul porilor ceea ce înseamnă ca substanțele active din MOE au fost încărcate în porii materialelor (Tabel 1). În cazul materialelor funcționalizate și încărcate cu MOE am observat o scădere semnificativă a suprafeței specifice BET ce demonstrează ca porii materialelor mezoporoase au un volum ridicat ce a fost ocupat aproape în totalitate.

Tabel 1. *Parametri texturali ai materialelor încărcate cu MOE*

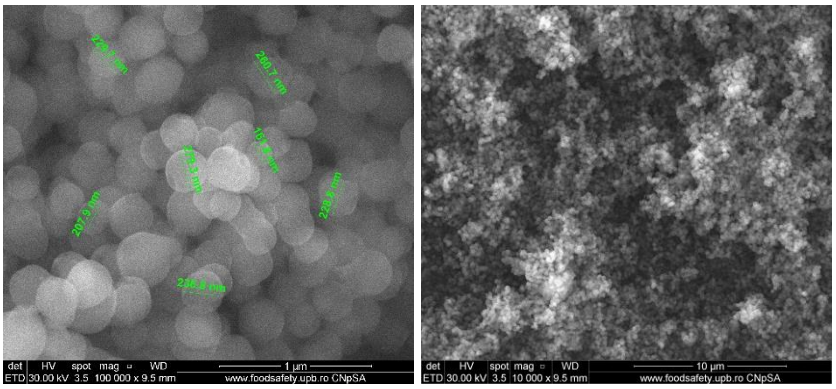
Proba	Volumul porilor cm^3/g	Suprafața specifică BET m^2/g
MCM-41	**0.783**	**1365**
MCM-41@MOE	0.1024	143.9
MCM-41@APTES	0.5706	1014
MCM-41@APTES@MOE	0.0295	22.43
MCM-48	**0.9423**	**1582**
MCM-48@MOE	0.1074	143.8
MCM-48@APTES	0.7371	1555
MCM-48@APTES@MOE	0.0835	76.14

Din imaginile SEM ale sistemelor am observat că MSNs au fost încărcate eficient. În cazul sistemelor cu MCM-41 (Figura 16 a,b), nanoparticulele au formă sferică cu dimensiuni între 150-350 nm, iar în cazul sistemelor cu MCM-48 (Figura 16 c,d), nanoparticulele au formă cvasisferică cu dimensiuni între 100-300 nm. În toate imaginile SEM ale materialelor se observă aglomerări de particule ceea ce înseamnă că o cantitate mică din MOE s-a depus pe suprafața nanoparticulelor.

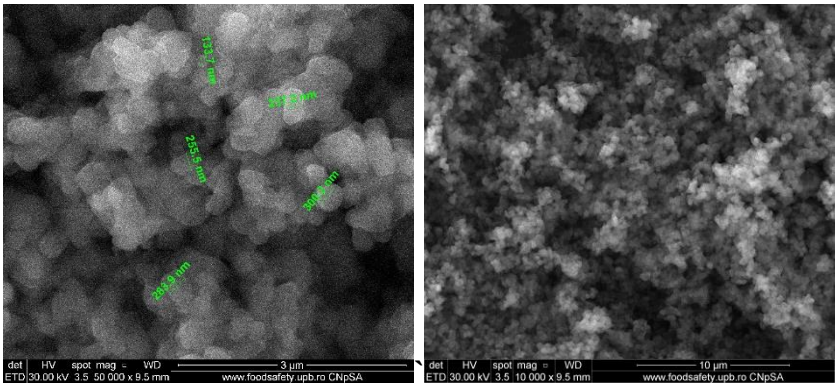
a)



b)



c)



d)

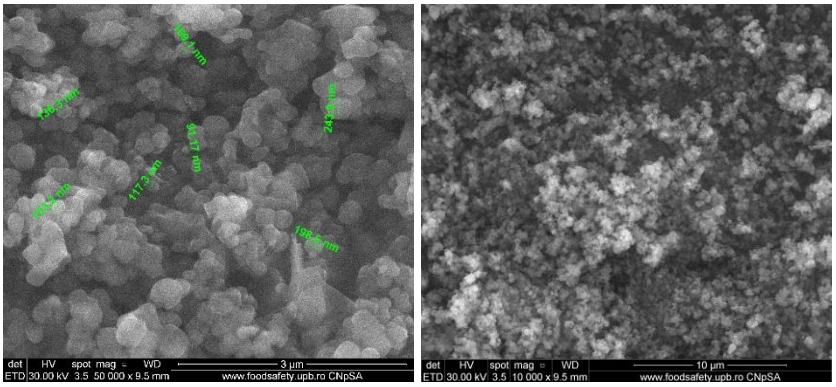
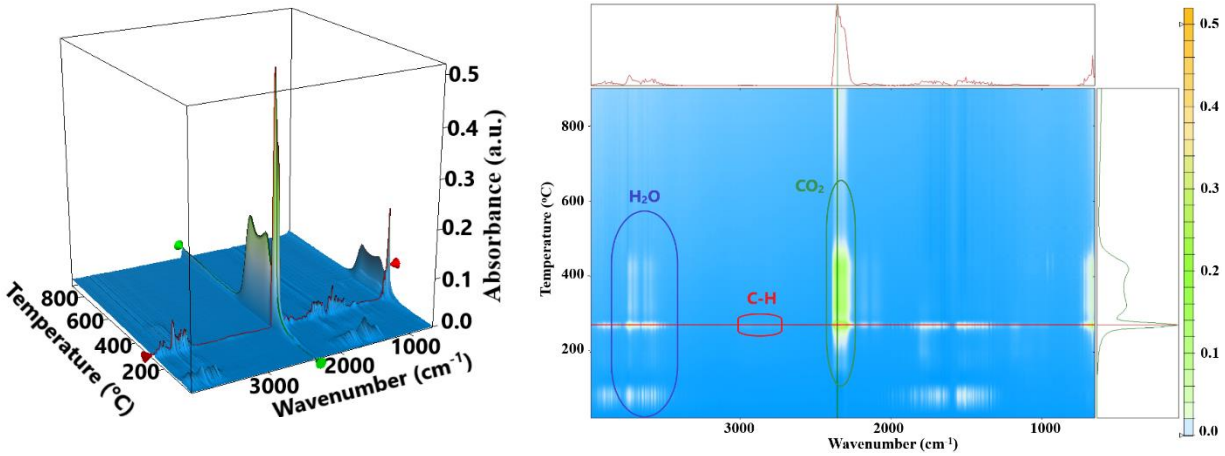


Figura 16. *Imagini SEM ale materialelor: a) MCM-41@MOE, b) MCM-41@APTES@MOE, c) MCM-48@MOE and d) MCM-48@APTES@MOE*

Din analizele FTIR și TG-DSC am obținut rezultate cu privire la structura sistemelor obținute observând că materialele au fost încărcate cu o cantitate ridicată de compuși polifenolici din MOE. În urma analizei FTIR pentru gazele degajate din analiza termică a MCM-41@MOE (Figura 17) am observat că a fost degajată o cantitate ridicată de CO_2, proces ce poate fi atribuit oxidării parțiale a substanțelor organice încărcate în silicea mezoporoasă.



a) **b)**

Figura 17. *Diagrama FTIR 3D pentru gazele degajate din analiza termică a MCM-41@MOE (a) și proiecția sa 2D în spațiul temperatură/numărul de undă (b)*

Materialele obținute au fost testate atât împotriva tulpinilor de referință, cât și a tulpinilor clinice aparținând tulpinilor Gram pozitive izolate anterior din infecții intra-spitalicești, împotriva bacteriilor și drojdiilor Gram-negative, observându-se o sensibilitate ridicată pentru *S. aureus*

ATCC 25923 cu o concentrația minimă inhibitorie medie în intervalul 0,156-1,25 mg/mL, urmată de *C. albicans* ATCC 10231 (0,078-2,5 mg/mL) și *E. faecium* ATCC 13048 (0,5 mg/mL).

În ultimul articol de cercetare acceptat spre publicare, intitulat ”New drug delivery system with catechin loaded in mesoporous silica nanoparticles” am obținut două materiale de tip MCM-41 și MCM-48 încărcate cu catechina. Aceste materiale au fost caracterizate pentru a arata structura silicei mezoporoase, dar și încărcarea acesteia cu catechina. Pentru a oferi o perspectivă a utilizării celor două materiale obținute, am realizat studiile de eliberare în două fluide biologice simulate și am arătat diferența dintre profilurile de eliberare ale catechinei din cele două materiale mezoporoase.

Prin urmare, aceste studii publicate în reviste internaționale oferă o perspectivă importantă în utilizarea polifenolilor și a extractului natural de Melissa officinalis în sistemele cu eliberare controlată cu diferite aplicații biologice.

Capitolul 5. Concluzii generale

Dezvoltarea de noi sisteme de eliberare controlată și cercetarea acestora este un pas important pentru nanomedicină în viitor. Atât sistemul de transport, cât și substanța activă contribuie cu o importanță majoră la acțiunea sistemelor de eliberare controlată către organul țintă.

În această teză am făcut un studiu detaliat despre sistemele cu eliberare controlată în care silicea mezoporoasă este folosită ca material transportor. În urma studiului de literatură, am observat diversitatea substanțelor active, extractelor naturale și a uleiurilor esențiale încărcate atât în silicea mezoporoasă, cât și în alte tipuri de materiale și efectele lor biologice.

În a doua parte a studiului am sintetizat materialele mezoporoase de tip MCM-41 și MCM-48 și le-am funcționalizat cu APTES. În urma caracterizării materialelor a rezultat că acestea au structura mezoporoasa cu dimensiunea și volumul porilor ridicate. Materialele obținute le-am încărcat cu polifenoli și extract de Melissa officinalis. Rezultatele analizelor de caracterizare au aratat ca sistemele obținute au fost încărcate cu cantități ridicate de polifenoli și extract de Melissa officinalis și de asemenea au proprietăți foarte bune de a fi cercetate din punct de vedere biologic. Sistemele au avut comportamente diferite în cele două tipuri de fluide biologice simulate și s-a observat o eliberare lentă de substanțe active în sistemele în care silicea mezoporoasă a fost

funcționalizat cu APTES. Diferențele dintre modul de eliberare a substanțelor active pot fi asociate cu diferitele solubilități și interacțiuni ale polifenolilor cu suporturile de silice mezoporoasă. Au fost testate MCM-41 și MCM-48 și s-a observat o toxicitate foarte scăzută, ceea ce înseamnă că materialele pot fi utilizate în sisteme cu eliberare controlată.

Rezultatele studiilor de cercetare reprezintă un pas important pentru nanomedicină, demonstrând că diferitele suporturi de silice mezoporoasă sunt capabile să transporte substanțe active și extracte naturale pentru a avea efectul biologic dorit.

Capitolul 6. Perspective de viitor

Utilizarea substanțelor naturale și a extractelor naturale în medicină reprezintă o mare provocare pentru studiile biologice *in vivo*. Deși rezultatele obținute promovează materialele obținute ca fiind utile pentru aplicații biomedicale, sunt necesare studii biologice suplimentare. Procesul de sinteză a MSN-urilor și a materialelor încărcate cu substanțe active trebuie îmbunătățit folosind solvenți și substanțe verzi pentru a reduce toxicitatea și efectele adverse. Materialele încărcate cu extract hidroalcoolic concentrat de *Melissa officinalis* reprezinta un interes deosebit datorita efectelor farmacologice pe care le oferă acest extract, dar sunt necesare studii detaliate, mai ales *in vivo* în funcție de aplicația biologică dorită. Ar fi necesare studii suplimentare, cum ar fi comportamentul extractului, studiul eliberării din matricea de silice mezoporoasă și efectele citotoxice ale acestora.

Prin urmare, materialele obținute au demonstrat un caracter inovator pentru sinteza materialelor pe bază de silice cu structură mezoporoasă, funcționalizate și încărcate cu substanțe active și extract natural. Materialele obţinute au demonstrat că pot fi utilizate ca sisteme de administrare a medicamentelor cu activitate antimicrobiană. Ca perspective de viitor, materialele mezoporoase obținute în acest studiu de cercetare reprezintă un viitor promițător în dezvoltarea sistemelor de eliberare controlată și trebuie realizate studii *in vivo*.

Capitolul 7. Diseminare

7.1 Lista publicațiilor

7.1.1 **Gabriela Petrisor**, Ludmila Motelica, Luminita Narcisa Craciun, Ovidiu Cristian Oprea, Denisa Ficai, Anton Ficai; ***Melissa officinalis*: Composition, Pharmacological Effects and Derived Release Systems—A Review**; *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23, 7, 3591; 10.3390/ijms23073591; Q1; IF= 5.6.

7.1.2 **Gabriela Petrisor**, Denisa Ficai, Ludmila Motelica, Roxana Doina Trusca, Alexandra Cătălina Bîrcă, Bogdan Stefan Vasile, Georgeta Voicu, Ovidiu Cristian Oprea, Augustin Semenescu, Anton Ficai, Mircea Ionut Popitiu, Irina Fierascu, Radu Claudiu Fierascu, Elena Lacramioara Radu, Lilia Matei, Laura Denisa Dragu, Ioana Madalina Pitica, Mihaela Economescu, Coralia Bleotu; **Mesoporous Silica Materials Loaded with Gallic Acid with Antimicrobial Potential**, *Nanomaterials*, 2022, 12, 1648; https://doi.org/10.3390/ nano12101648; Q1; IF= 5.3.

7.1.3 **Gabriela Petrisor**, Ludmila Motelica, Denisa Ficai, Roxana Doina Trusca, Vasile-Adrian Surdu, Georgeta Voicu, Ovidiu Cristian Oprea, Anton Ficai, Ecaterina Andronescu; **New Mesoporous Silica Materials Loaded with Polyphenols: Caffeic Acid, Ferulic Acid and p-Coumaric Acid as Dietary Supplements for Oral Administration**, *Materials*, 2022, 15, 7982; https:// doi.org/10.3390/ma15227982; Q2; IF= 3.4.

7.1.4 **Gabriela Petrisor**, Ludmila Motelica, Denisa Ficai, Cornelia-Ioana Ilie, Roxana Doina Trusca, Vasile-Adrian Surdu, Ovidiu-Cristian Oprea, Andreea-Luiza Mîrt, Gabriel Vasilievici, Augustin Semenescu, Anton Ficai, Lia-Mara Ditu; **Increasing Bioavailability of Trans-Ferulic Acid by Encapsulation in Functionalized Mesoporous Silica**, *Pharmaceutics*, 2023, 15, 660; https:// doi.org/10.3390/; Q1; IF= 5.4.

7.1.5 **Gabriela Petrisor**, Ludmila Motelica, Roxana Doina Trușcă, Andreea-Luiza Mîrț, Gabriel Vasilievici, Justinian-Andrei Tomescu, Cristina Manea, Andreea Ștefania Dumbravă, Viorica Maria Corbu, Irina Gheorghe-Barbu, Denisa Ficai, Ovidiu-Cristian Oprea, Bogdan-Ștefan Vasile, Anton Ficai, Anca Daniela Raiciu, **The Antimicrobial Potency of Mesoporous Silica Nanoparticles Loaded with *Melissa officinalis* Extract**, *Pharmaceutics*, 2024, 16 (4), 525; https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16040525; Q1; IF= 5.4.

7.1.6 **Gabriela Petrisor**, Ludmila Motelica, Denisa Ficai, Roxana Doina Trusca, Adrian Vasile Surdu, Georgeta Voicu, Ovidiu Cristian Oprea, Anton Ficai, **New drug delivery system with catechin loaded in mesoporous silica nanoparticles**, U.P.B. Sci. Bull., Series B, 2024 (accepted for publication).

7.1.7 **Gabriela Petrisor**, Ludmila Motelica, Roxana Trusca, Vladimir Lucian Ene, Denisa Ficai, Ovidiu Cristian Oprea, Georgeta Voicu, Anton Ficai; Abstract: **"Mesoporous Silica Systems Loaded with Polyphenols"**, *Chemistry Proceedings*, 2022, *7*(1), 15; https://doi.org/10.3390/chemproc2022007015.

7.1.8 Denisa Ficai, Ludmila Motelica, **Gabriela Petrişor**, Irina Fierascu, Radu Claudiu Fierascu, Anton Ficai, Coralia Bleotu; Abstract: **"Porous Materials as Platforms for the Delivery of Polyphenols"**, *Chemistry Proceedings*, 2022, *7*(1), 77; https://doi.org/10.3390/chemproc2022007077.

7.2 Participari la conferințe si workshop-uri

7.2.1 **Gabriela Petrișor**, Anton Ficai, **"Controlled release systems based on active substances from *Melissa officinalis*"**, *International Scientific Conference "Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering"* (presentation, on-line), 2020, Bucharest, Romania.

7.2.2 Denisa Ficai, Ludmila Motelica, **Gabriela Petrișor**, Irina Fierescu, Radu Claudiu Fierescu, Anton Ficai, Coralia Bleotu, **"Porous Materials in the Treatment of Microbiota-related Diseases"**, *Workshop "Smart Functional Nanomaterials: From Synthesis To Advanced Applications"* (on-line), 7-8 May, 2021, Rome, Italy.

7.2.3 **Gabriela Petrișor**, Ludmila Motelica, Roxana Trusca, Vladimir Lucian Ene, Denisa Ficai, Ovidiu Oprea, Anton Ficai, **"Mesoporous systems loaded with polyphenols for treatment of dysbiosis"**, *International Scientific Conference "Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering"(presentation, on-line)*; 25-26 June 2021, Bucharest, Romania.

7.2.4 **Gabriela Petrișor**, Ludmila Motelica, Roxana Trusca, Vladimir Lucian Ene, Denisa Ficai, Ovidiu Oprea, Anton Ficai, **"Mesoporous systems loaded with epicatechin and catechin for the treatment of colon cancer",** *International Workshop COST Challenges of tumor profiling in translational research* (presentation), 20-21 September 2021, Bucharest, Romania.

7.2.5 **Gabriela Petrișor**, Ludmila Motelica, Roxana Trusca, Vladimir Lucian Ene, Denisa Ficai, Ovidiu Oprea, Georgeta Voicu, Anton Ficai, **"Mesoporous silica systems loaded with polyphenols"**, *International Symposium "Priorities of chemistry for a sustainable development" PRIOCHEM XVII* (presentation, on-line), 27-29 October 2021, Bucharest, Romania.

7.2.6 Denisa Ficai, Ludmila Motelica, **Gabriela Petrișor**, Irina Fierascu, Radu Claudiu Fierascu, Anton Ficai, Coralia Bleotu, **"Porous Materials as Platforms for the Delivery of Polyphenols"**, *International Symposium "Priorities of chemistry for a sustainable development" PRIOCHEM XVII* (presentation, on-line), 27-29 October 2021, Bucharest, Romania.

7.2.7 **Gabriela Petrișor**, Ludmila Motelica, Roxana Doina Trusca, Vladimir Lucian Ene, Denisa Ficai, Ovidiu Cristian Oprea, Georgeta Voicu, Dan Eduard Mihaiescu, Anton Ficai; **"Mesoporous silica systems loaded with epicatechin and catechin for the treatment of colon cancer"**, *International Scientific Conference "Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering"* (presentation, on-line), 25-27 November 2021, Bucharest, Romania.

7.2.8 **Gabriela Petrișor**, Ludmila Motelica, Denisa Ficai, Ovidiu Oprea, Anton Ficai, Ecaterina Andronescu; **„Porous material for biomedical applications"**; *9th Edition International Scientific Practical Conference "Training By Research For a Prosperous Society"* (presentation, on-line), 19-20 march 2022, Chişinău, Moldova.

7.2.9 **Gabriela Petrișor**, Denisa Ficai, Ludmila Motelica, Roxana Doina Trusca, Alexandra Catalina Bîrca, Bogdan Stefan Vasile , Georgeta Voicu, Ovidiu Cristian Oprea, Augustin Semenescu, Anton Ficai , Mircea Ionut Popitiu, Irina Fierascu, Radu Claudiu Fierascu, Elena Lacramioara Radu, Lilia Matei , Laura Denisa Dragu, Ioana Madalina Pitica, Mihaela Economescu and Coralia Bleotu; **"Mesoporous Silica Materials Loaded with Gallic Acid with Antimicrobial Potential"**, *International Scientific Conference „Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering"* (presentation, on-line), 22-24 June 2022, Bucharest, Romania.

7.2.10 **Gabriela Petrișor**, Ludmila Motelica, Denisa Ficai, Cornelia-Ioana Ilie, Roxana Doina Trusca, Adrian Vasile Surdu, Georgeta Voicu , Ovidiu Cristian Oprea, Lia-Mara Ditu, Anton Ficai; **"New Mesoporous Silica Materials Loaded With Ferulic Acid As Food Supplements For Oral Administration"**, *International Symposium "Priorities of chemistry for a sustainable development" PRIOCHEM XVIII* (presentation, on-line), 26-28 October 2022, Bucharest, Romania.

7.2.11 **Gabriela Petrișor**, Ludmila Motelica, Denisa Ficai, Roxana Doina Trusca, Adrian Vasile Surdu, Georgeta Voicu, Ovidiu Cristian Oprea, Anton Ficai; **"Functionalized Mesoporous Silica Materials Loaded with Ferulic Acid",** *International Scientific Conference "Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering"* (presentation, on-line), 24-26 November 2022, Bucharest, Romania.

7.2.12 **Gabriela Petrișor**, Ludmila Motelica, Denisa Ficai, Roxana Doina Trusca, Ovidiu Cristian Oprea, Andreea-Luiza Mirț, Gabriel Vasilievici, Justinian-Andrei Tomescu, Cristina Manea, Anton Ficai, Anca Daniela Raiciu **"Mesoporous materials loaded with *Melissa officinalis* extract",** *International Scientific Conference "Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering"* (presentation, on-line), 28-30 June 2023, Bucharest, Romania.

7.2.13 **Gabriela Petrișor**, Ludmila Motelica, Denisa Ficai, Ovidiu Cristian Oprea, Trușcă Roxana, Ecaterina Andronescu, Alina Holban, Anton Ficai **"Antimicrobial composite packaging films"** (poster), 19-21 June 2024, Bucharest, Romania.

7.3 Premii

7.3.1. **Gold metal** granted by Euroinvent European Exhibition of Creativity and Inovation for the work entitled **"Controlled release systems for maintaining the balance of the gastrointestinal microbiota and improving health and method of obtaining them", Gabriela Petrișor**, Ludmila Motelica, Ioana Bardis, Laura-Denisa Dragu, Lilia Matei, Ioana-Madalina Pitica, Denisa Ficai, Irina Fierascu, Radu Claudiu Fierascu, Ovidiu Cristian Oprea, Anton Ficai, Coralia Bleotu; 13 May 2023, Iași , Romania.

7.3.2. **Best paper award** received at International Scientific Conference "Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering", for the work entitled **"Mesoporous systems loaded with polyphenols for treatment of dysbiosis", Gabriela Petrișor**, Ludmila Motelica, Roxana Trusca, Vladimir Lucian Ene, Denisa Ficai, Ovidiu Oprea, Anton Ficai, 25-26 June 2021, Bucharest, Romania.

7.3.3. **Session award** received at International Symposium "Priorities of chemistry for a sustainable development" PRIOCHEM XVII, for the work entitled **"Mesoporous silica systems loaded with polyphenols", Gabriela Petrișor**, Ludmila Motelica, Roxana Trusca, Vladimir

Lucian Ene, Denisa Ficai, Ovidiu Oprea, Georgeta Voicu, Anton Ficai, 27-29 October 2021, Bucharest, Romania.

7.4 Cerere de brevet

Gabriela Petrișor, Ludmila Motelica, Ioana Bardis, Laura-Denisa Dragu, Lilia MATEI, Ioana-Madalina Pitica, Denisa Ficai, Irina Fierascu, Radu Claudiu Fierasacu, Ovidiu Cristian Oprea, Anton Ficai, Coralia Bleotu, **"Sisteme cu eliberare controlată pentru menținerea echilibrului microbiotei gastrointestinale și îmbunătățirea sănătății și procedeu de obținere a acestora"**, Nr. OSIM: A/00649/18.10.2022.

7.5 Alte activități

Participare la **"School of Science Interdisciplinary Summer Course Program (iSCOPe)"** organizat de Universitatea Tehnică din Dresden, Dresden, Germania, 10-18 septembrie 2022.

Bibliografie selectivă

[1] V.K. Devi, N. Jain, K.S. Valli, Importance of novel drug delivery systems in herbal medicines, Pharmacogn Rev 4(7) (2010) 27-31.

[2] J.K. Patra, G. Das, L.F. Fraceto, E.V.R. Campos, M.D.P. Rodriguez-Torres, L.S. Acosta-Torres, L.A. Diaz-Torres, R. Grillo, M.K. Swamy, S. Sharma, S. Habtemariam, H.S. Shin, Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects, J Nanobiotechnol 16 (2018).

[3] O. Afzal, A.S.A. Altamimi, M.S. Nadeem, S.I. Alzarea, W.H. Almalki, A. Tariq, B. Mubeen, B.N. Murtaza, S. Iftikhar, N. Riaz, I. Kazmi, Nanoparticles in Drug Delivery: From History to Therapeutic Applications, Nanomaterials-Basel 12(24) (2022).

[4] R. Saka, N. Chella, Nanotechnology for delivery of natural therapeutic substances: a review, Environ Chem Lett (2020).

[5] D. Lombardo, M.A. Kiselev, M.T. Caccamo, Smart Nanoparticles for Drug Delivery Application: Development of Versatile Nanocarrier Platforms in Biotechnology and Nanomedicine, J Nanomater 2019 (2019).

[6] P. Thoniyot, M.J. Tan, A.A. Karim, D.J. Young, X.J. Loh, Nanoparticle-Hydrogel Composites: Concept, Design, and Applications of These Promising, Multi-Functional Materials, Adv Sci (Weinh) 2(1-2) (2015) 1400010.

[7] G. Tiwari, R. Tiwari, B. Sriwastawa, L. Bhati, S. Pandey, P. Pandey, S.K. Bannerjee, Drug delivery systems: An updated review, Int J Pharm Investig 2(1) (2012) 2-11.

[8] I.I. Lungu, A.M. Grumezescu, A. Volceanov, E. Andronescu, Nanobiomaterials Used in Cancer Therapy: An Up-To-Date Overview, Molecules 24(19) (2019).

[9] Z.L. Fatemeh Jamshidi-Kia, Hossein Amini-Khoei, Medicinal plants: Past history and future perspective, Journal of Herbmed Pharmacology 7(1) (2018) 1-7.

[10] H. Wang, C.P. Wang, Y. Zou, J.J. Hu, Y.W. Li, Y.Y. Cheng, Natural polyphenols in drug delivery systems: Current status and future challenges, Giant-Amsterdam 3 (2020).

[11] S.M. Aravind, S. Wichienchot, R. Tsao, S. Ramakrishnan, S. Chakkaravarthi, Role of dietary polyphenols on gut microbiota, their metabolites and health benefits, Food Res Int 142 (2021).

[12] S.V. Luca, I. Macovei, A. Bujor, A. Miron, K. Skalicka-Wozniak, A.C. Aprotosoaie, A. Trifan, Bioactivity of dietary polyphenols: The role of metabolites, Crit Rev Food Sci 60(4) (2020) 626-659.

[13] C.G. Fraga, K.D. Croft, D.O. Kennedy, F.A. Tomas-Barberan, The effects of polyphenols and other bioactives on human health, Food & Function 10(2) (2019) 514-528.