

RAPORTARE STIINTIFICA GEMNS

Proiect EURO NANO MED II

Nanoparticule magnetice, încapsulate în grafene multi-funcționale, ca detectori autonavigabili, termal-inteligenți pentru integrin-receptori, utilizabili în tratamentul anti-cancer ghidat prin imagistică de rezonanță magnetică.

Acronim GEMNS

RST - Raport științific și tehnic Partener 7 (ID-57)

1. Obiective anul 2016;

- T1.3. Modelarea interacțiunii enzima-polimer în funcție de temperatura (din 2015)
- T4.5. Prezicerea toxicității teranostice a GEMNS prin strategii QSAR (in silico)
- T4.5a. Studii QSPR
- T4.5b. Studii QSAR

2. Rezumatul etapei 2015 (WP1) și 2016 (WP4)

GEMNS – este un dispozitiv molecular, construit dintr-un miez magnetic (Fe sau Co) acoperit de straturi de grafena, care poate produce efect teranostic. Straturile exterioare, care înconjoară grafena sunt molecule de polimeri, funcționalizati, care leagă covalent grafena și o imunoglobulină iar enzima (glucozoxidază GOx) va fi legată non-covalent. Prin schimbarea polarității câmpului magnetic exterior, sistemul se încălzește și eliberează enzima, care transformă glucoza în produși de reacție și apă oxigenată H₂O₂, care se presupune că va modifica proprietățile celulei canceroase, devenind mai sensibilă la diversele terapii anti-cancer.

Etapa **WP1** (2015). (T1.2a) Au fost realizate modele ale enzimei GOx (cu evidențierea a două situsuri de legare intensă, denumite LIG1 (în interiorul enzimei) și LIG2 (pe suprafața enzimei), prin studii de andocare moleculară); Compleksii enzima-polimer au fost studiați prin Dinamica moleculară, care a permis evaluarea cantitativă a interacțiunilor enzima-polimer, la nivelul diferitelor aminoacizi din structura enzimei (Grad de realizare 100%).

T1.2b. Au fost generate o gamă de structuri polimerice PEI (polietilenimina) de diferite dimensiuni moleculare și forme (liniar, ramificat și dendrimer) pentru aflarea optimului forma/mărime în interacțiunea polimerului cu enzima (Grad de realizare 100%).

T1.3. Modelarea interacțiunii enzima-polimer în funcție de temperatura, nu s-a putut realiza în 2015 (datorită incertitudinii/intârzierii finanțării proiectului) dar a fost realizată (100%) în 2016.

Etapa WP4 (2016). (T1.3 din 2015). Modelarea interacțiunilor enzima-polimer-GEMNS în funcție de temperatura. Două tipuri de polimeri au fost studiate: 1. Poly(ethylenimine) (PEI: C₁₄N₈ (liniar și trei izomeri ramificați), C₁₈N₁₀ (linear și trei izomeri ramificați)) și 2. Poly(amidoamine) (PAMAM - G₀, G₁, G_{1.5}, G₂, G₃) pentru definirea proprietăților lor de legare a grafenei, imunoglobulinei și enzimei în complexul numit GEMNS.

Caracteristicile straturilor de polimeri au fost modelate computational in sensul gasirii combinatiei optime (ca tip de molecula si dimensiunea catenei) PAMAM/PEI. Activitatea GOx a fost studiată in trei domenii de temperatura: GOx, normal domeniu 26-27 °C, euthermia domeniu 36-37 °C si hyperthermia domeniu, 42-46 °C. A fost efectuat un studiu de Dinamica Moleculara pe trei domenii de interes (27°C, pH 6.5); (37°C, pH 7.4) si respectiv (46°C, pH 7.4); a fost calculat parametrul RMSD al factorului Debye-Waller. Au fost studiate schimbarile conformationale ale aminoacizilor din buzunarul de legare al FAD/GOx care determina schimbari in structura si stabilitatea/activitatea FAD si in cele din urma ale GOx.

A fost generata “in silico” o unitate functionala ce compune GEMNS (o sfera grafenica cu miez magnetic, invelita cu straturi de polimeri (PEI/PAMAM) functionalizati, care se leaga covalent de grafena si de o imunoglobina Ig (printr-o punte disulfidica) si non-covalent de enzima GOx) (Grad de realizare 100%).

Coroborarea datelor cu date experimentale ale altor grupuri, parteneri GEMNS; Calculele de Dinamica Moleculara au evidentiat **aceiasi dimensiuni ale structurii globale GEMNS** ca cele obtinute **experimental de Grupul de la Varsovia**.

Au fost efectuate calcule de chimie cuantica si topologie moleculara pe polimerul PEI si alti polimeri utilizati ca drug-carriers, in chimia medicinala; a fost studiată in detaliu **structura elicoidala a unor astfel de polimeri**.

Etapa WP4 (2016) (T4.5.) Predictia toxicitatii theranostice a GEMNS prin strategii QSAR. Toxicitatea componentelor GEMNS a fost studiată prin studierea „spatiului proprietatilor QSAR/QSPR”, in principal a proprietatilor topologice a macromoleculor aditionale (non-enzimatic). PEI si PAMAM sunt macromolecule de legatura, in fapt un balast care trebuie eliminat din celule (detoxificare). Predictia proprietatilor fizice si metabolitilor a fost facuta cu procedurile reunite QSAR & vHTTS (virtual High Throuput Toxicity Screening) care utilizeaza caracteristicile fragmentale ale macromoleculor pentru a prezice toxicitati globale. Studiile au aratat ca PEI si PAMAM nu prezinta reactivitate chimica in organism si nici proprietati genotoxice si citotoxice. Cele doua clase constitutive ale GEMNS apartin clasei 2 de persistenta chimica (amine terciare), excretandu-se asa cum sunt, desi pot aparea produși de PAMAM N-dealchilati si/sau N-oxidati si anumite interactiuni genetice. Sase dendrimeri sintetizati in laboratorul nostrum au aratat toxicitati de 1000 ori mai mari in comparative cu PAMAM/PEI.

Obiectivul T4.5. va continua in 2017 cu prelucrarea rezultatelor oferite de ceilalti parteneri GEMNS si coroborarea calculelor cu rezultatele experimentale privind toxicitatea structurilor implicate in GEMNS.

3 GEMNS – Raport Stiintific si tehnic

GEMNS – este un dispozitiv molecular, construit dintr-un miez magnetic (Fe sau Co) acoperit de straturi de grafena, care poate produce efect theranostic. Straturile exterioare, care inconjoara grafena sunt molecule de polimeri, functionalizati, care leaga covalent grafena si o imunoglobina iar enzima (glucozoxidaza) va fi legata non-covalent. Prin schimbarea polaritatii campului magnetic exterior, sistemul se incalzeste si elibereaza enzima, care transforma gulcoza in produși de reactie si apa oxigenata H₂O₂, care se presupune ca va modifica proprietatile celulei canceroase, devenind mai sensibilă la diversele terapii anti-cancer.

Faza 1. Studiu computational al polimerilor care formeaza mesa grafenei sferice (magnetic). Doua tipuri de polimeri au fost studiate: 1. Poly(ethylenimine) (PEI) si 2. Poly(amidoamine) (PAMAM) pentru definirea proprietatilor lor de legare a grafenei, imunoglobinei si enzimei.

PAMAM este o clasa de dendrimeri constand din unitati de ramificare ce poarta grupe functionale amino si amido. Acesti dendrimeri prezinta biocompatibilitate datorita existentei grupelor amino la suprafata si grupelor amido la interior. Similaritatea ca dimensiune moleculara si functionala cu moleculele biologice alaturi de biocompatibilitate, control structural si usoara functionalizabilitate fac din acesti dendrimeri candidate pentru nanotehnologii si drug design/developmentⁱ.

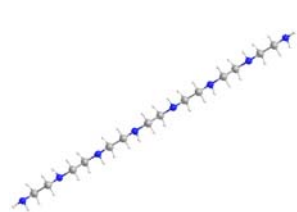
PEI este un polimer cu unitati repetitive compuse din grupari amino si doi atomi de carbon aliphatic (ca spacer). PEI este utilizat in culture celulare pentru usurinta cu care se ancoreaza de acesteaⁱⁱ.

PEI si PAMAM se utilizeaza ca vectori nonviraliⁱⁱⁱ. Abilitatea lor de a lega biomolecule depinde de tipul/formula molecular, tipul de isomeri (linear ori ramificati), numarul de straturi PAMAM/PEI ce formeaza retea (the „grid”) in jurul biomoleculei. Se cunosc o multime de biomolecule care pot fi legate de astfel de polimeri: imunoglobine, enzime, protein, DNA si RNA, etc. Reteaua PAMAM/PEI poate acoperi/lega de asemenea: grafene, fullerene, grafene cu nucleu metallic, etc. Caracteristicile straturilor de polimeri pot fi modelate computational in sensul gasirii combinatiei optime (ca tip de molecula si dimensiunea catenei) PAMAM/PEI biomolecule.^{iv}

In studiul nostrum am modelat urmatoarele tipuri de molecule PEI: C14N8 (liniar si trei izomeri ramificati), C18N10 (linear si trei izomeri ramificati).

PAMAM a fost studiat la generatiile: G0, G1, G1.5, G2, G3 (figurile 1 si 2).

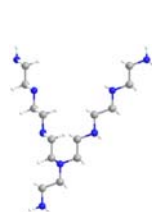
Structurile au fost „in silico” optimizate cu ajutorul dinamicii moleculare (DM), si analizate cu metode statistice (regresii liniare si alte strategii chemometrice) si data mining.



C14N8 01



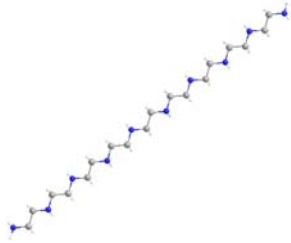
C14N8 02



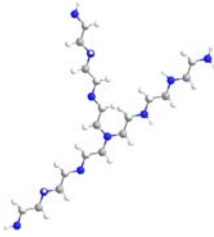
C14N8 03



C14N8 04



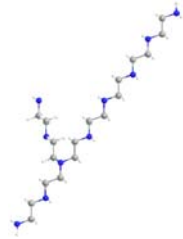
C18N10 01



C18N10 02

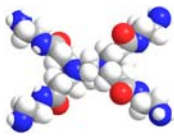


C18N10 03

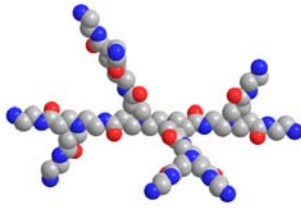


C18N10 04

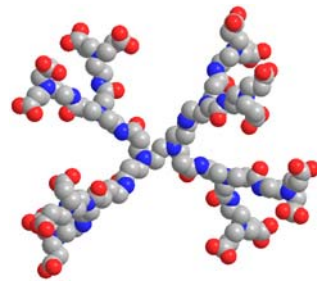
Figura 1 PEI C14N8 & C18N10 (serii studiate)



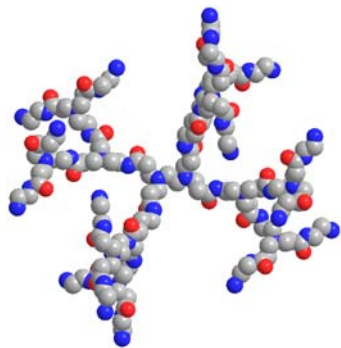
G.0



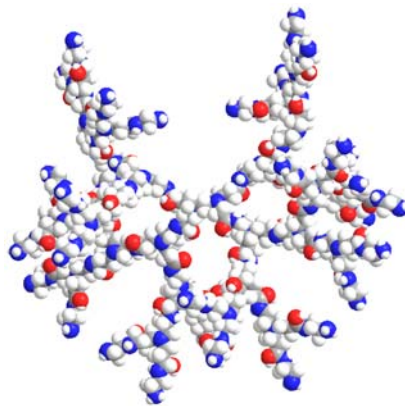
G.1



G. 1.5



G.2



G.3

Figura 2 PAMAM (generatii studiate)

Faza 2 Studiul sistemului producator de H₂O₂.

Pentru a produce apa oxigenata H₂O₂, Glucooxidaza (GOx) a fost aleasa datorita stabilitatii ei in fluxul sangvin si a eficientei dovedita experimental. Studiul computational al GOx a utilizat ca structura de start 1GPE (ori 3QVR, din baza de date PubChem).

Activitatea GOx a fost studiată in trei domenii de temperatura: GOx, normal domeniu 26-27 °C, euthermia domeniu 36-37 °C si hyperthermia domeniu, 42-46 °C.

La simularea conditiilor de pH si temperatura, structura enzimei a fost protonate, in intervalul de pH 4-8; temperature a fost variata intre 20°C si 50°C. Pentru conditii externe celulei, presiunea a fost luata 10 KPa, corespunzand presiunii interstitiale din majoritatea tesuturilor vii^v; constanta dielectrica a apei a fost setata cf. temperaturii iar cea a GOx a fost 3. Variabilele legate de energia potential si cinetica (in kcal/mol) a sistemului molecular, la timpul, si domeniile de pH si temperatura, la presiunea instantanee P (in KPa), la volumul instantaneu (in angstrom cubic), au fost de asemenea calculate. Astfel, pentru un pH intre 4 si 8, au fost generate 155 GOx 1 subunitati PDB structurale. Pentru echilibrarea structurilor s-au folosit algoritmi: NPH^{vi} (Nose-Poincaré-Hoover) si BER (Berendsen velocity/position scaling methodology).

A fost realizat un model de homologie^{vii, viii}, cu 1GAL ca secventa template; matricea de identificare s-a bazat pe urmatoarea secventa PDB si Uniprot amino acizi: 1GPE (587Aa), 1CF3A (581AA), 2JVB(529 Aa), 1JU2 (521 Aa) , U NQ16 (555 Aa), U 1BZ9 (552 Aa), U RXH5 (502Aa), U V371 (529 Aa), U 5751 (531 Aa). Au fost dezvoltate zece modele de proteina iar modelul final a fost obtinut dupa minimizarea energetica. Pentru ultimul model au fost calculate energia de contact si energia electronica. A fost realizat un studiu comparativ de docare^{ix} pe GOx monomer 1Gal care a condus la modelul homolog-monomer, cu FAD si glucoza ca liganzi; in urma studiilor de docking a fost reprezentata afinitatea de legare la GOx.

A fost efectuat un studiu de Dinamica Moleculara pe trei domenii de interes (27°C, pH 6.5); (37°C, pH 7.4) si respectiv (46°C, pH 7.4); a fost calculat parametrul RMSD al factorului Debye-Waller (i.e., factorul B).

A fost calculate energia entropica a FAD in conditii optimale, si de asemenea la temperatura normal a corpului ca si in conditii de hyperthermia; au fost calculate ariile de contact, ariile de expunere, % de arie expusa si cele mai mici distante, pentru aminoacizii din buzunarul de legare al enzimei, in scopul modelarii interactiunilor optime la un anumit interval de pH si temperatura. Au fost efectuate mutatii de aminoacizi si s-a calculat energia libera Gibbs pentru a testa stabilitatea proteinei. In vederea explorarii adaptabilitatii aminoacizilor (di setul intern ca si extern buzunarului de legare) la conditiile de temperature si pH si mai apoi a optimizarii activitatii GOx, au fost calculate ariile de expunere ale aminoacizilor si % de expunere a aminoacizilor din complexul FAD – Aa (aminoacizi). Au fost explorate doua stari: {26.82~27 °C; pH 6.5 – starea de activitate optimala} si {46°C; pH 7.5 – starea de hypertermie}, pentru care au fost calculate parametrii mai sus amintiti. Schimbarile conformationale ale aa din buzunarul de legare al FAD vor determina schimbari in structura si stabilitatea/activitatea FAD si in cele din urma ale GOx.

Schimbarile in conformatia GOx dependente de temperature au aratat o usoara crestere a volumului GOx la 37 °C care se mentine constant la 46 °C (figura 4). Aceste date sugereaza ca activitatea enzimei se mentine constanta in domeniul 37-46 °C.

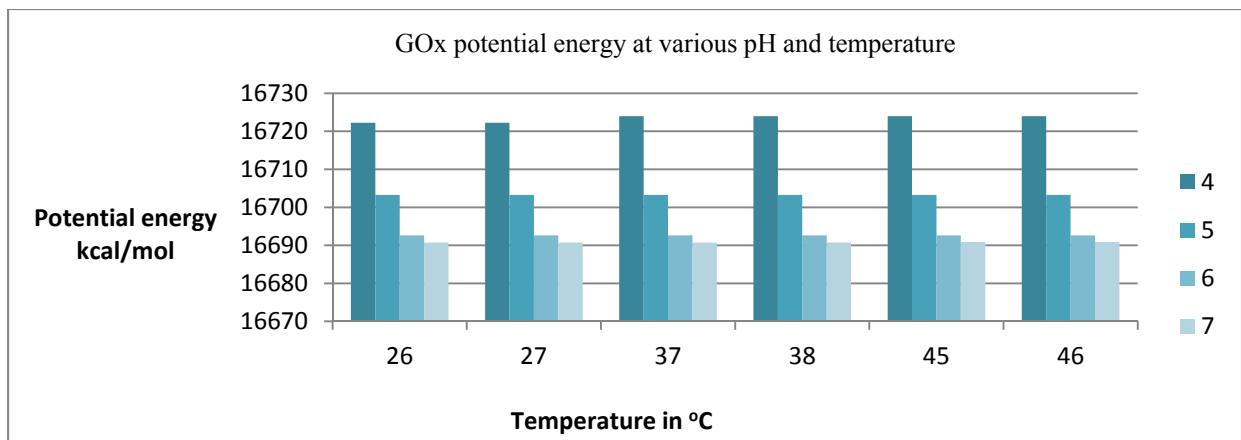


Figura 3 GOx – energia potentiala functie de pH si temperatura.

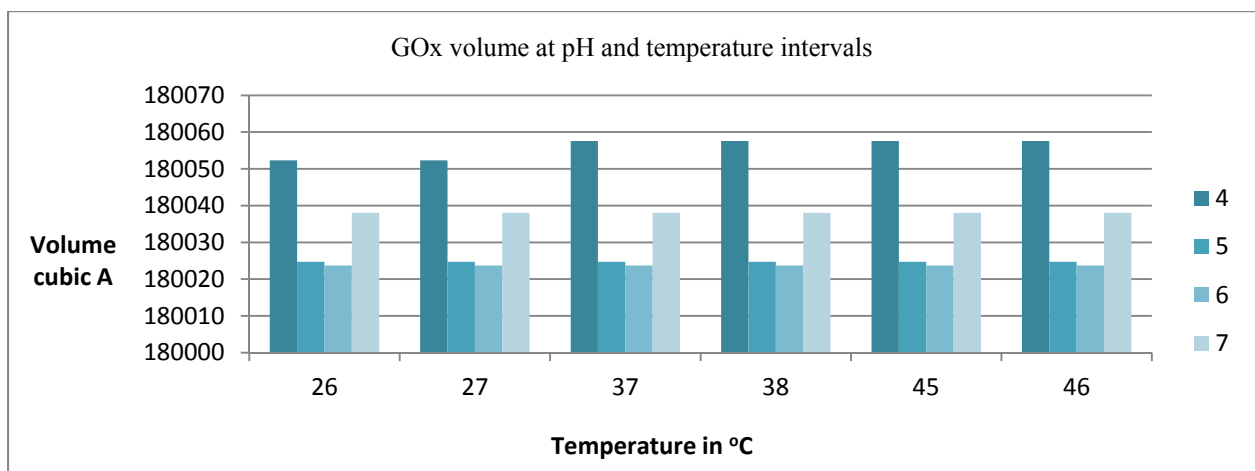


Figura 4 Variatia volumului GOx pe diferite interval de pH si temperatura.

Structura FAD a fost urmarita in diferite flavoenzime (proteine ce contin FAD) pentru a obtine informatii detaliate despre reactivitatea aceste co-enzime in enzima GOx. Au fost studiate 15 flavoproteine; figura 5 ilustreaza gruparea FAD inconjurata de aminoacizi in diversele flavoproteine studiate.

Se observa ca diferitele aranjamente se aminoacizi determina diferite conformatii ale FAD (si aminoacizii ce-l inconjoara) si in consecinta variatia activitatii enzimatice.

Raportul Arie/Volum (S/V) ofera o imagine cantitativa a activitatii unei enzime flavinice (cu grupa FAD). Figura 6 prezinta raportul arie/volum intr-o maniera dinamica, de la o activitate dominant oxidativa la una pregnant reductiva.

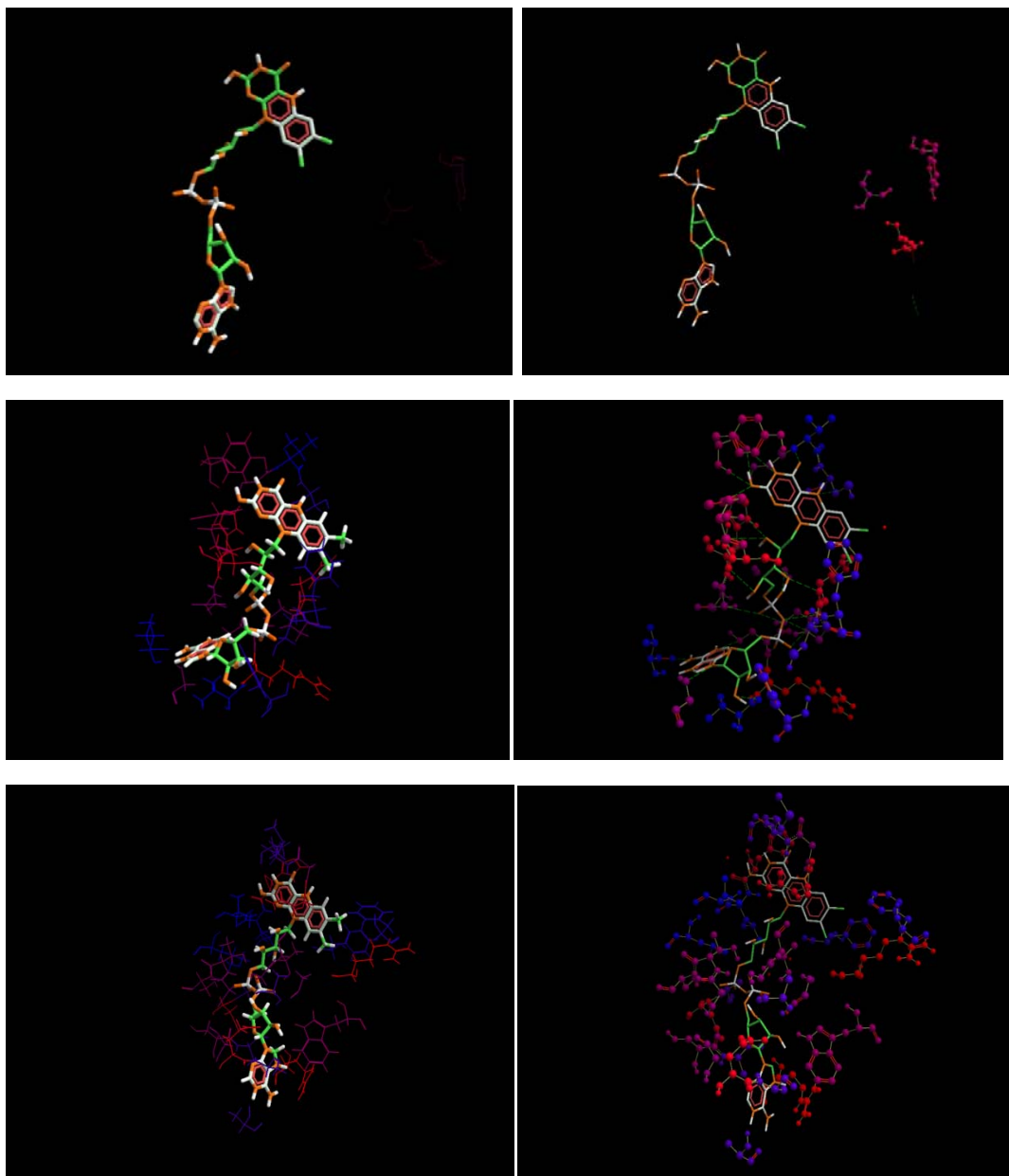


Figura 5 De sus in jos, FAD - aa „meshing”: 1GPE, 2WDW, 4YNT, prin interactiuni hidrofobe (coloana stanga) si respective electrostatice (coloana dreapta). FAD este reprezentat cu gruparea flavinica (FAD) orientata approx. la fel.

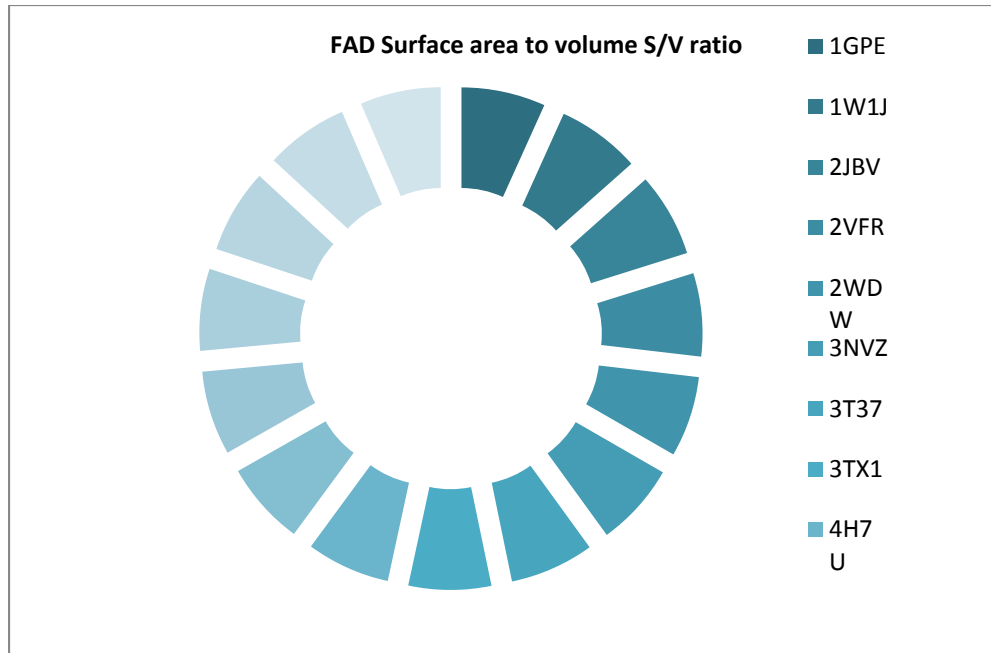


Figura 6 Raportul S/V crescator, de la alcool dehidrogenaza(5HSA) (minim) la GOx (1GPE), (maxim).

Faza 3. Biofunctionalizarea sferei grafena-polimer (gemns).

A fost generata “in silico” o unitate functionala (figurile 7 si 8) ce compune GEMNS (o sfera grafenica cu miez magnetic, invelita cu straturi de polimeri (PEI/PAMAM) functionalizati, care se leaga covalent de grafena si de o imunoglobina Ig (printr-o punte disulfidica) si non-covalent de enzima GOx).

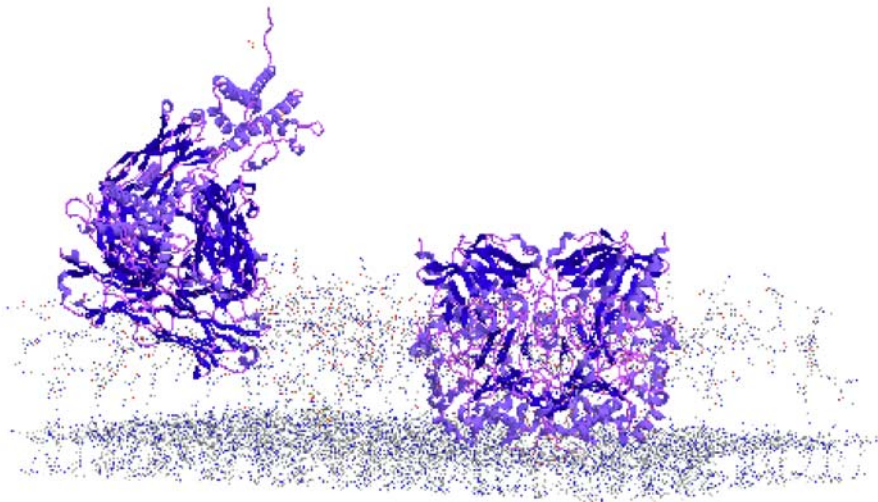


Figura 7 O unitate functionala PEI/PAMAM monostrat, continand o molecula of GOx libera si o imunoglobina Ig (4CNI) legata covalent de PEI. Moleculele PAMAM G2 inglobeaza toata constructia.

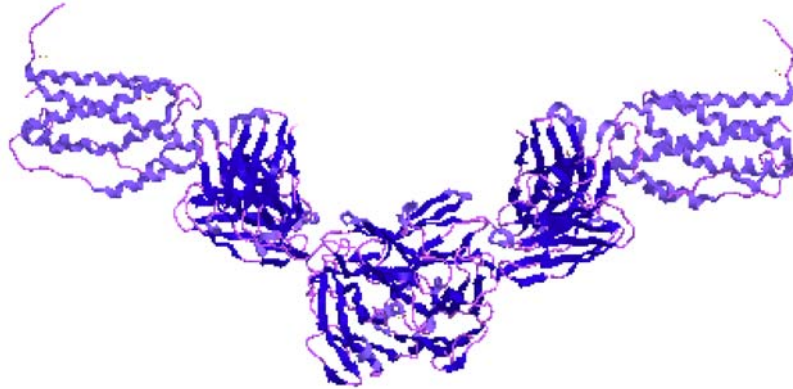


Figura 8 Anticorpul/imunoglobina Interleukin 4 (4CNI).

Unitatea are o surfata de $200 \times 200 \text{ \AA}^2$. O astfel de unitate reprezinta un sistem de maxima densitate functionala ce se poate realiza. Un numar de 25 unitati ar putea acoperi o sfera cu diametrul de 126nm. Datele computationale au fost **confirmate de date experimentale (Grupul din Polonia)**.

Sabilitatea unitatii functionale a fost dovedita prin studii de dinamica moleculara (system stabil la 46°C . protonat la pH 7.4 (la conc NaCl 9 g/l), la o constanta dielectrica 2. Testul Psi/Phy a detectat doar 3 outliers (din scorul K) ceea ce sugereaza ca GOx si Ig NU sunt denaturate si produc H_2O_2 respectiv pastreaza functia recognitiva (figura 9).

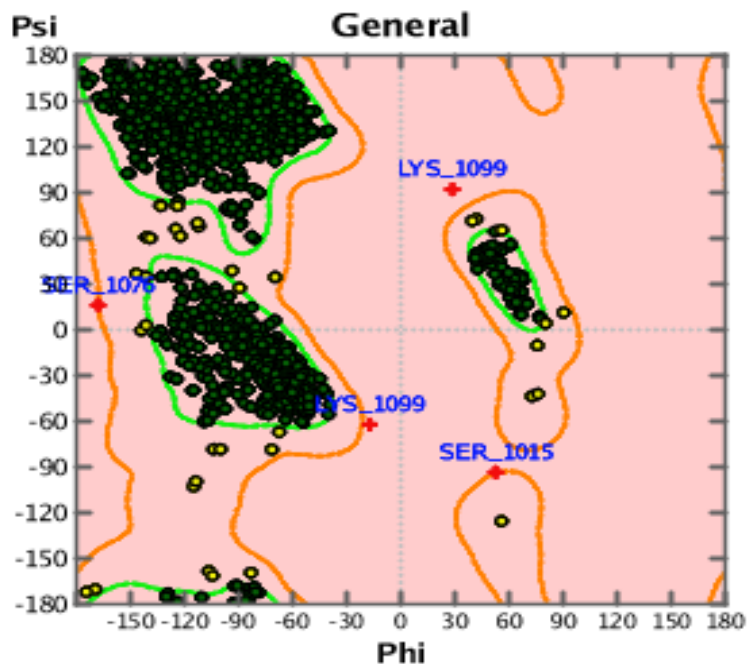


Figura 9 Plotul Psi/Phi al anticorpului Interleukin 4 (4CNI) si al sistemului GOx(1GPE) PEI/PAMAM

Faza 4. Prezicerea toxicitatii theranostice a GEMNS prin strategii QSAR (in silico).

Metodele QSAR sunt folosite in predictia toxicitatii. Un model QSAR poate prezice corect proprietati ale unor compusi ce apartin aceluasi spatiu chimic cu al moleculele folosite in etapa de training. Liganzii molecule mici sunt ideali pentru explorarea spatiului chimic. In cazul macromoleculor (*e.g.*, polimeri, dendrimeri), constructia modelului regresional se bazeaza pe parti/fragmente ale macromoleculor, si de aceea tehnicile statistice sunt mai putin precise, (in stiinta materialelor fragmentele nu pastreaza proportionalitatea proportiilor (spre deosebire de sistemele biologice ligand –receptor, unde baza fragmentala este bine cunoscuta).

Testele de toxicitate in cazul nanostructurilor sunt scumpe tocmai din cauza ca proprietatile de toxicitate nu sunt aditive. Si tot din aceasta cauza, la compararea cu structuri similare apar erori. Acest inconvenient poate fi depasit folosind o procedura numita “virtual Hight Throuput Toxicity Screening (vHTTS)”. Aceasta metoda genereaza o cantitate mare de date unice/specifice necesare constructiei modelului QSAR de toxicitate, facand modelul mai predictiv.

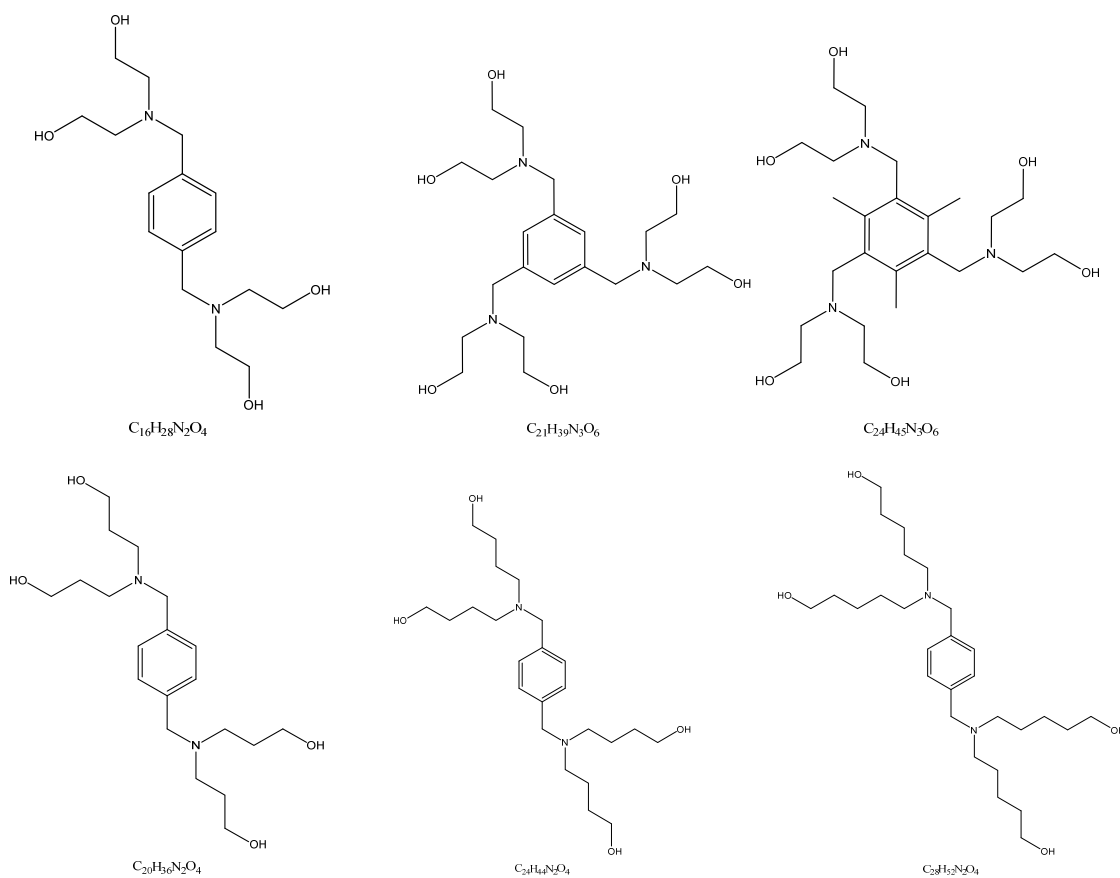


Figura 10. ZAC dendrimeri (sintetizati in lab Chimie, UBB) - target pentru vHTTS.

O procedura vHTTS a fost dezvoltata pe baza de date polyamidoamine (PAMAM)/Poliethylenimines (PEI) cu tinta/target 6 compusi dendritici cu nucleu aromatic, de generatie zero “ZAC” sintetizati in laboratorul nostru (Figura 10).

Un model farmacofor a fost dezvoltat pentru compusii ZAC si altul pentru PAMAM/PEI (6 ZAC dendrimeri + 8 PEI + 4 PAMAM) iar datele au fost supuse procedurii QSAR. In detaliu, au fost calculate structuri PAMAM (de generatie 0;1;1.5 si 2) si PEI ($C_{14}N_8$ si $C_{18}N_{10}$), pentru stabilirea spatiului lor chimic si in final toxicitatea lor. Toxicitatea a fost calculate cu un software ce utilizeaza un arbore de decizie.

Aceste studii au aratat ca atat PAMAM cat si PEI (structurile analizate) nu prezinta efect genotoxic ori carcionogenic. Testul "Ames" a fost negativ pentru toti acesti compusi (realizat pe *S.typhimurium*). Testul de biodegradabilitate a aratat ca aceste substante apartin clasei 2 de persistenta chimica (ca si aminele terciare). Testele pe citocromul C 450 au aratat pentru PAMAM N-dealchilare si N-oxidare. O regresie multiliniara a fost efectuata pe compusii PEI si PAMAM. Farmacoforii calculate sunt ilustrati in Figura 11.

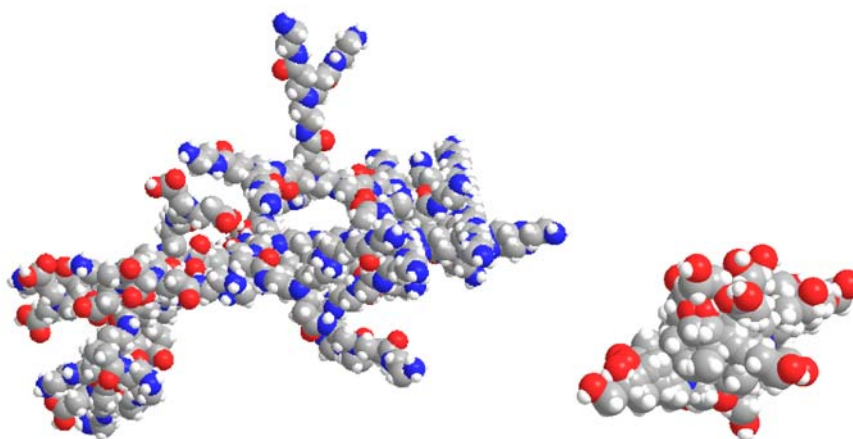


Figura 11 Structura celor doi farmacofori (PAMAM/PEI si respective ZAC dendrimeri)

Proprietatile topologice ale acestor molecule sunt aratate in Figura 12.

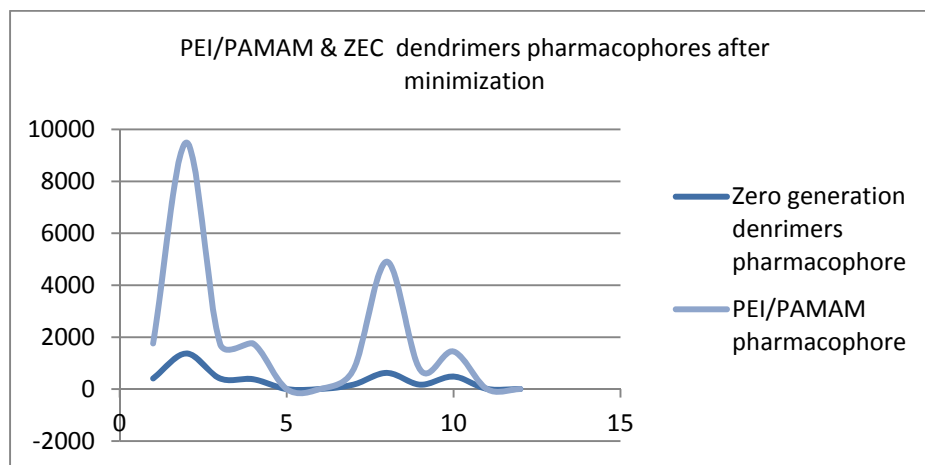


Figura 12 Proprietati topologice pentru of PEI/PAMAM si ZEC dendrimeri (molecule derivate) (de la stanga la dreapta): 1 cluster count; 2 aria polara A^2 (PSA); 3 shape-ul; 4 suma gradelor de valenta; 5 conectivitate totala; 6 valenta totala-conectivitate; 7 cluster count minimizat; 8 aria polara minimizata A^2 (PSA); 9 shape-ul minimizat; 10 suma gradelor de valenta minimizata; 11 conectivitate totala minimizata; 12 valenta totala-conectivitate minimizate.

A fost obtinut un model de regresie liniara multipla, cu variabila independent y- toxicitatea acuta iar ca variabile dependente au fost considerate: numarul atomilor H, C, N atoms, masa moleculara, numarul total de atomi, numarul de atomi grei, gradele rotationale, numarul grupelor H-acceptoare si H-donoare, sarcinile Anderson, distanta minima intre doua grupe H-donoare, distanta minima intre grupele H-donoare si H-acceptoare, distanta medie intre doua grupari H-donoare, media distantei intre o grupa H-donoare si una H-acceptoare, indicele Wiener si logP. Toate aceste date au fost utilizate/aplicate setului de training, din care a rezultat o corelatie cu coeficient Pearson

$R^2=0.996$ with $y=0.00165321+ 0.991084x$; the cross validated square was 0.991084 (Figura 13).

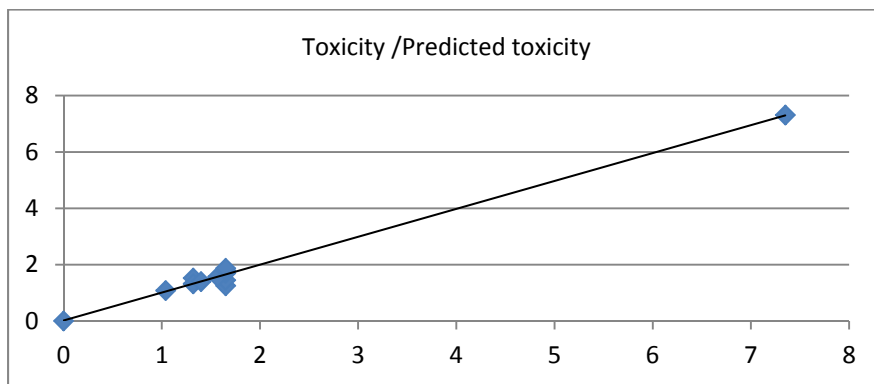


Figure 13 Corelatia intre toxicitati modelate si doze prezise

Modelul a fost rafinat pentru doze maxime zilnice, cand a fost obtinuta o corelatie Person

$R^2=0.999$ with $y=0.00274498+0.998815x$, cu o validare incrucisata $Q^2=0.998815$ (Figure 14)

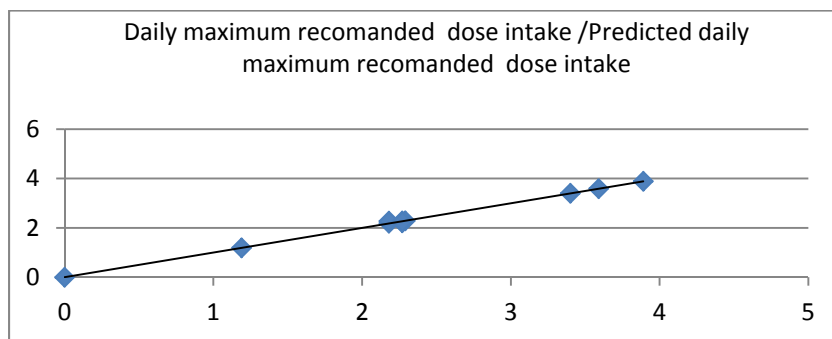


Figura14 Corelatia intre toxicitati zilnice maxime modelate si doze prezise

Datele de toxicitate sunt de asemenea prezentate in Figurile 15 si 16.

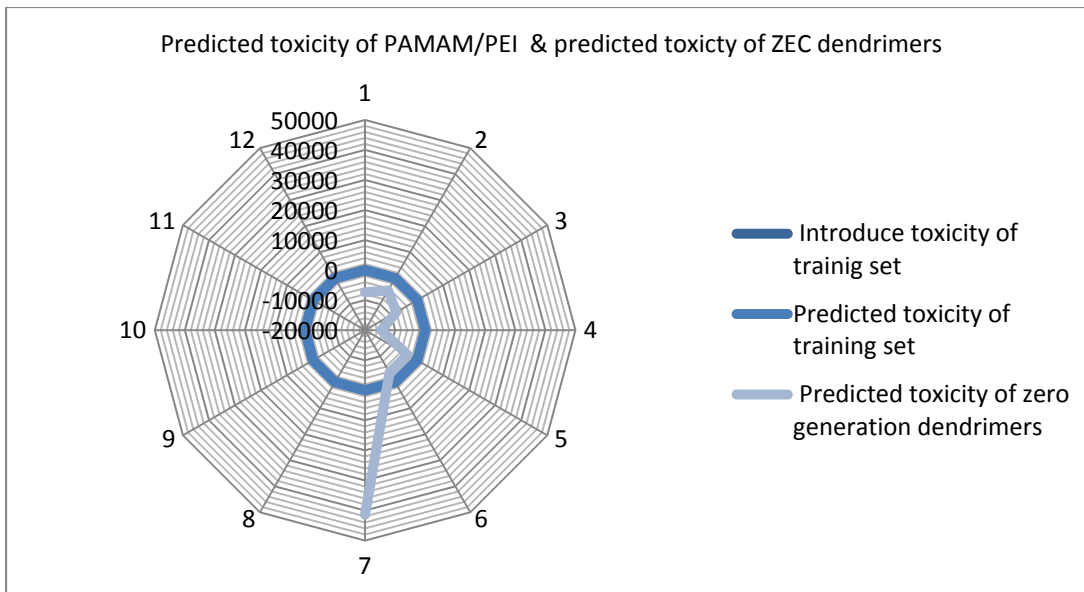


Figure 15 Toxicitati derivate din modelul QSAR

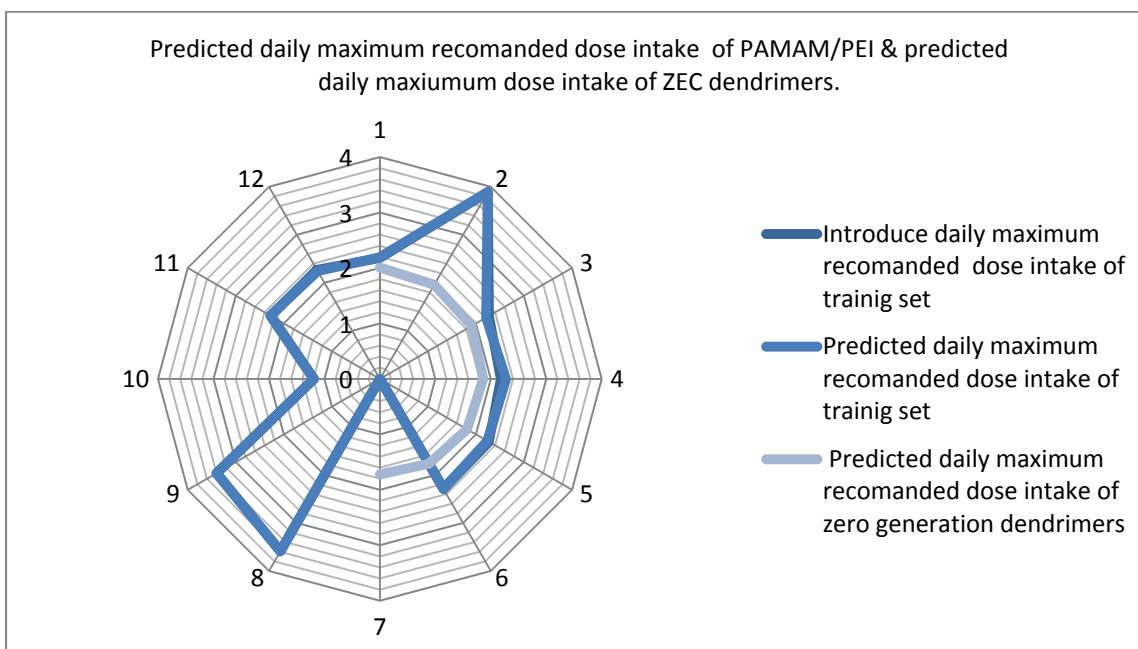


Figure 16 Toxicitati derivate din modelul QSAR cu doze zilnice maxim admise

Datele obtinute sugereaza pentru dendrimerii ZAC toxicitati de 1000 ori mai mari decat pentru PAMAM/PEI.

Rezultate (articole publicate sau trimise)

1. **Linear and branched PEIs (Polyethylenimines) and their properties space**, Claudiu N. Lungu, Mircea V. Diudea, Mihai V. Putz and I. P. Grudziński (T1.3) (Publicat 2017)
2. **FAD molecular adaptability among surrounding amino acids and its catalytic role in Glucose Oxidase and related flavoproteins**, Claudiu N. Lungu, Mircea V. Diudea, Mihai V. Putz and P. Grudziński (T1.3) (Publicat 2017)
3. **Nature of interactions one of the derivatives of PEI with GOX after docking procedure and Molecular Dynamic**, Beata Szeffler, Mircea V. Diudea and I. P. Grudziński, *Studia UBB_Chemia*, 2016, 61(1), 249-260. (T1.2) (Publicat 2016)
4. **Molecular Dynamic Studies of the Complex Polyethylenimine and Glucose Oxidase**, Beata Szeffler, Mircea V. Diudea, Mihai V. Putz and I. P. Grudziński, *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, 7, 000-000. (T1.3) (Publicat 2017)
5. **Study of geometrical shaping of linear chained polymers stabilized as helices**, Lorentz Jäntschi and Sorana D. Bolboacă, *Studia UBB_Chemia*, 2016, 61(4), 000-000. (T4.5) (Publicat 2017)

Oral Presentations

6. **C₆₀ aggregation**. MolMod 2016, Cluj: M. V. Diudea, A. Pîrvan-Moldovan, C.L. Nagy, (oral presentation).
7. **Topological symmetry in multi-shell clusters**. Mathematics in Chemistry, Max Plank Institute for Mathematics in Sciences. Leipzig, Germany, 26-28 Oct, 2016, M.V. Diudea and A. Pirvan-Moldovan (oral presentation).
8. **QSAR Cluj algorithm**, Bydgoszcz, Kopernicus Inst. Med. Pharm., Poland, 29 Aug. 2016, Pirvan-Moldovan (oral presentation).
9. **Poly(amidoamine) (PAMAM) and Poly(ethylenimine) (PEI) gridlocks for biomolecules**, Claudiu N. Lungu, Mircea V. Diudea, and Ireneusz P. Grudziński, Berlin, 2016, 26-7 Oct, EuroNanoMed II Training workshop and 4th Review seminar for funded projects.
10. **Computing nanochemistry for GEMNS**, M. Diudea, Claudiu N. lungu GEMNS 2nd Consortium Meeting, Bergen, Norway, 8.09, 2016.

Concluzii

Macromoleculele PEI si PAMAM nu reactioneaza in corpul uman, si nu prezinta proprietati genotoxice ori citotoxice. Testele pe C 450 au aratat ca PAMAM sufera N-dealchilare si N-oxidare, cu posibile interferente in rutile de metabolizare. Compusii dendritici ZAC, sintetizati in laboratorul nostrum au aratat toxicitati de 1000 ori mai mari decat PAMAM/PEI in termini de toxicitati acute si doze zilnice, precise din modelul QSAR.

Calcululele de toxicitate vor fi reluate cand for fi obtinute date experimentale de la parteneri din proiectul GEMNS (2017).

Au fost efectuate calcule de chimie cuantica si topologie moleculara pe polimerul PEI si alti polimeri utilizati ca drug-carriers, in chimia medicinala; a fost studiata in detaliu **structura elicoidala a unor astfel de polimeri.**

Au fost studiate proprietatile fizico-chimice ale grafenei sferice intr-un review despre **Onion-Fullerenes.**

4 Scurt raport despre deplasările in strainatate privind activitatea de diseminare si/sau formare profesionala

- a. Bydgoszcz, Kopernicus Inst. Med. Pharm., Poland, 29 Aug. 2016, Pirvan-Moldovan** QSAR Cluj algorithm, (prezentare orala si computer programs training).
- b. GEMNS 2nd Consortium Meeting, Bergen, Norway, 8.09, 2016.** Computing nanochemistry for GEMNS, M. Diudea, Claudiu N. Lungu (prezentare orala).
- c. Berlin, 2016, 26-7 Oct, EuroNanoMed II Training workshop and 4th Review seminar** for funded projects. Poly(amidoamine) (PAMAM) and Poly(ethylenimine) (PEI) gridlocks for biomolecules, Claudiu N. Lungu, Mircea V. Diudea, and Ireneusz P. Grudziński (prezentare orala).
- d. Mathematics in Chemistry, Max Plank Institute for Mathematics in Sciences. Leipzig, Germany, 26-28 Oct, 2016,** Topological symmetry in multi-shell clusters. M. Diudea and A. Pirvan-Moldovan. (prezentare orala).

ⁱLee, Cameron C; MacKay, John A; Fréchet, Jean M J; Szoka, Francis C ."Designing dendrimers for biological applications". *Nature Biotechnology* 23 (12): 1517–26, **2005**.

ⁱⁱVancha AR; et al.. "[Use of polyethyleneimine polymer in cell culture as attachment factor and lipofection enhancer](#)". *BMC Biotechnology* 4: 23, **2004**.

ⁱⁱⁱRudolph, C; Lausier, J; Naundorf, S; Müller, RH; Rosenecker, J. "In vivo gene delivery to the lung using polyethylenimine and fractured polyamidoaminedendrimers". *Journal of Gene Medicine* 2 (4): 269–78, **2000**.

^{iv}[ItamarWillner](#), [BilhaWillner](#), Institute of Chemistry, The Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem 91904, Israel, "Biomolecule-Based Nanomaterials and Nanostructures"*NanoLett.*, 10 (10), pp 3805–3815, **2010**.

^vMichael Leuing, Alwin E. Goetz, Marc Dellian, Gerd Zetter, Fernando Gamarra, Rakesh K. Jain, Konrad Messmer. Interstitial Fluid Pressure in Solid Tumors following Hyperthermia: Possible Correlations with Therapeutic Response *Journal of cancer research* 52 pp 487, **1992**.

^{vi}Nosé, S.A unified formulation of the constant temperature molecular-dynamics methods, (), *Journal of Chemical Physics* 81 (1): 511–519, **1984**.

^{vii}[C Chothia](#) and [A M Lesk](#). The relation between the divergence of sequence and structure in proteins, , *EMBO J.*, 5(4): 823–826, **1986**.

^{viii}[V. K. Vyas](#), [R. D. Ukawala](#), [M. Ghate](#), [C. Chintha](#), Homology Modeling a Fast Tool for Drug Discovery: Current Perspectives, *Indian J Pharm Sci.* , 74(1): 1–17, **2012**.

^{ix}Michael Meyer, Gerd Wohlfahrt, Jörg Knäblein, Dietmar Schomburg, Aspects of the mechanism of catalysis of glucose oxidase: A docking, molecular mechanism and quantum chemical study *Journal of Computer -Aided Molecular Design*, 12 pp 425-440, **1998**.

^xM. E. Füstös, T. A. Sipos, M. V. Diudea, G. Katona, *Croat. Chem. Acta* **88** (2) (2015) 129-132