**„NANOPARTICULE METALICE BIOFUNCȚIONALIZATE – OBȚINEREA CU AJUTORUL CIANOBACTERIILOR ȘI MICROALGELOR”, 20.80009.5007.05**

**Rezumatul activității și a rezultatelor obținute în proiect.**

La etapa a. 2022 a proiectului au fost efectuate cercetări în scopul obținerii, caracterizării nanoparticulelor metalice fotoactive biofuncționalizate *in vitro* în sisteme formulate în baza fracțiilor biologic active din biomasa cianobacteriei *Arthrospira platensis* CNMN-CB-01 și de apreciere a toxicității lor.

Pentru a selecta tipul de biomolecule care pot participa la biofuncționalizarea dirijată a nanoparticulelor de aur și argint au fost elaborate și realizate scheme de obţinere prin extragere din biomasa de spirulină, nativă și pre tratată prin diverse metode (congelare/decongelare repetată, microunde, ultrasunet) a diferitor fracții biologic active ce conțin peptide și/sau proteine și/sau glucide. Schemele au la bază principiul extragerii succesive, precum și solubilitatea compușilor biologic activi de interes ai spirulinei în alcool de diferite concentrații și hidroxid de sodiu de diverse concentrații. Au fost stabiliți parametrii variabili specifici pentru tipurile de biomasă utilizată și tipurile extractelor (alcoolic sau alcalin) care au determinat valoarea produsului final.

În extractele obținute, a fost evaluată compoziţia după compuşii biologici de interes (peptide/proteine/glucide) şi proprietăţile reactive ale lor, ceea ce a permis stabilirea criteriilor care determină funcționalitatea extractelor în calitate de substrat pentru biofuncționalizarea nanoparticulelor de aur și argint. Au fost efectuate cercetări în scopul evidențierii criteriilor de stabilire a funcționalității extractelor proteice în calitate de suport pentru biofuncționalizarea nanoparticulelor. Au fost selectate opt variante de extracte alcoolice și alcaline în calitate de materie primă pentru identificarea parametrilor specifici procesului de biofuncționalizare a nanoparticulelor.

Complexele proteice obținute din biomasa de spirulină au fost evaluate ca reactive și selectate drept formulă relevantă de sistem pentru a asigura contactul cu nanoparticulele de aur și de argint cu dimensiunea de 5 nm, 10 nm și 20 nm, stabilizate în citrat.

Nanoparticulele funcționalizate în complexele proteice obținute din biomasa de spirulină au fost caracterizate după dimensiune. Aplicând metoda SEM au fost obținute imaginile nanoparticulelor de Au și Ag în extractele proteice, de asemenea a fost înregistrat spectrul EDAX care confirmă prezența metalului în extractul proteic.

Au fost efectuate cercetările de studiere a efectelor biologice a nanoparticulelor de aur și argint biofuncționalizate în baza complexelor proteice obținute din biomasa de spirulină*, in vivo* pe animale de laborator în bază de contract de prestare a serviciilor de cercetare și cu implicarea echipei proiectului, în vivariul Institutului de Fiziologie și Sanocreatologie și Laboratorul Fiziologia Stresului, Adaptării și Sanocreatologie generală. Pentru nanoparticulele de aur și argint biofuncționalizate în baza complexelor proteice obținute din biomasa de spirulină nu a fost stabilită toxicitate acută. Au fost analizate rezultatele testului de modificare a masei corporale. Urmează să fie analizate datele despre acumularea și clearance-ul metalelor în organele prelevate, care vor furniza informații despre modificarea proprietăților nanoparticulelor biofuncționalizate pe suport de compuși bioactivi. Au fost analizate rezultatele testelor hematologice care au evidențiat un răspuns imun și hematopoietic diferit în dependență de tipul și biofuncționalizarea nanoparticulelor, precum și de sexul animalelor de laborator.

Astfel, complexele proteice, obținute în baza biomasei de spirulina manifestă reactivitate înaltă și pot fi aplicate pentru biofuncționalizarea nanoparticulelor de aur și argint, iar efectele lor *în vivo*, pe animale de laborator nu sunt caracterizate prin toxicitate acută.

To fulfill the tasks of 2022 stage, studies have been carried out to obtain and characterize photoactive metal nanoparticles biofunctionalized *in vitro* in systems prepared on the basis of biologically active from the biomass of cyanobacterium *Arthrospira platensis* CNMN-CB-01, and to assess their toxicity.

In order to select the type of biomolecules that can participate in the directed biofunctionalization of gold and silver nanoparticles, schemes have been developed for obtaining different biologically active fractions containing peptides and/or proteins, and/or carbohydrates from spirulina biomass, both native and pretreated by various methods (repeated freezing/thawing, microwave, ultrasound). Technological schemes are based on the principle of successive extraction procedure, as well as on the solubility of bioactive compounds of interest both in alcohol and sodium hydroxide of various concentrations. Specific variable parameters were set for the type of biomass used and the type of extract (ethanolic or alkaline) that determined the value of the end product.

The composition of the obtained extracts was estimated according to biological compounds of interest (peptides/proteins/carbohydrates) and their reactive properties, which made it possible to establish criteria that determine the functionality of the extracts as a substrate for the biofunctionalization of gold and silver nanoparticles.

Protein complexes derived from spirulina biomass were assessed as reactive and selected as an appropriate system formulation to ensure contact with citrate-stabilized gold and silver nanoparticles of 5 nm, 10 nm and 20 nm.

Nanoparticles functionalized in protein complexes obtained from spirulina biomass were characterized by their size. Using SEM instruments, images of Au and Ag nanoparticles in protein extracts were obtained, as well as energy dispersive X-ray (EDAX) analysis spectrum was recorded, confirming the presence of metal in the protein extract. The characterization of nanoparticles was carried.

Studies have conducted to assess the biological effects of biofunctionalized gold and silver nanoparticles based on protein complexes from spirulina biomass, *in vivo* on laboratory animals on the basis of a contract for the provision of research services and with the participation of the project team, in the vivarium of the Institute of Physiology and Sanocreatology, Laboratory of Stress Physiology, Adaptation and General Sanocreatology. These biofunctionalized nanoparticles based on protein complexes showed no acute toxicity. The results of changes in body weight of animals were analyzed. The data of hematological and biochemical tests, as well as the accumulation and clearance of metals in selected organs will be analyzed, which will provide information on changes in the properties of the biofunctionalized nanoparticles on the substrate of bioactive compounds.

The results of hematological tests were analyzed and revealed a different immune and hematopoietic response depending on the type and biofunctionalization of the nanoparticles, as well as on the sex of the laboratory animals.

Thus, protein complexes derived from spirulina biomass are highly reactive and can be used for the biofunctionalization of gold and silver nanoparticles, and their effects *in vivo* on laboratory animals are not characterized by acute toxicity.