

Universitatea de Medicină și Farmacie “Victor Babeș” – Timișoara

**Departamentul IV Biochimie și Farmacologie – Disciplina de
Farmacologie**



**INVESTIGAȚII PRIVIND MECANISMELE DE ACȚIUNE A TRITERPENOIDILOR
FUNCȚIONALIZAȚI
REZUMAT**

Doctorand: MACAȘOI O. IOANA-GABRIELA

Coordonator științific:

Prof. univ. dr. Drumitrașcu Victor

Timișoara, 2021

Cuprins

LISTA LUCRĂRILOR PUBLICATE	VI
LISTA ABREVIERILOR	VII
INDEXUL FIGURILOR	X
INDEXUL TABELELOR	XIII
MULȚUMIRI	XV
INTRODUCERE.....	1
PARTEA GENERALĂ	1
CAPITOLUL I. ASPECTE GENERALE REFERITOARE LA PROCESUL CANCEROS	5
I. Procesul canceros	5
II. Metabolismul mitocondrial în transformarea malignă	8
III. Mitocans. Agenți antitumorali	17
IV. Triterpene pentaciclice.....	21
PARTEA SPECIALĂ	25
STUDIUL I. EVALUAREA IN SILICO A MECANISMULUI DE ACȚIUNE ANTIPROLIFERATIV MITOCONDRIAL AL UNOR DERIVAȚI DE TRITERPENE PENTACICLICE	26
I.1. SCOPUL STUDIULUI.....	26
I.2. MOTIVAȚIA STUDIULUI	26
I.3. MATERIALE ȘI METODE	27
I.4. REZULTATE	28
I.5. DISCUȚII	30
I.6. CONCLUZII.....	31
STUDIUL II. EVALUAREA CAPACITĂȚII ANTIOXIDANTE ALE DERIVATULUI DE ACID OLEANOLIC CONJUGAT CU RHODAMINA B	32
II.1. SCOPUL STUDIULUI	32
II.2. MOTIVAȚIA STUDIULUI.....	32
II.3. MATERIALE ȘI METODE.....	33
II.4. REZULTATE	34
II.5. DISCUȚII.....	38
II.6. CONCLUZII	39
STUDIUL III. ACTIVITATEA CITOTOXICĂ ȘI ANTIPROLIFERATIVĂ A RhodOA COMPARATIV CU CEA A ACIDULUI OLEANOLIC	40

III.1. SCOPUL STUDIULUI.....	40
III.2. MOTIVAȚIA STUDIULUI.....	40
III.3. MATERIALE ȘI METODE	41
III.4. REZULTATE	45
III.5. DISCUȚII	78
III.6. CONCLUZII	80
STUDIUL IV. TEHNICA IMUNOFLUORESCENȚEI	81
IV.1. SCOPUL STUDIULUI.....	81
IV.2. MOTIVAȚIA STUDIULUI	81
IV.3. MATERIALE ȘI METODE	82
IV.4. REZULTATE	82
IV.5. DISCUȚII	85
IV.6. CONCLUZII.....	86
STUDIUL V. STUDIUL RESPIRAȚIEI CELULARE	87
V.1. SCOPUL STUDIULUI.....	87
V.2. MOTIVAȚIA STUDIULUI.....	87
V.3. MATERIALE ȘI METODE	88
V.4. REZULTATE.....	89
V.5. DISCUȚII.....	91
V.6. CONCLUZII	92
STUDIUL VI. METODA MEMBRANEI CORIOALANTOIDE	94
VI.1. SCOPUL STUDIULUI.....	94
VI.2. MOTIVAȚIA STUDIULUI	94
VI.3. MATERIALE ȘI METODE	95
VI.4. REZULTATE	97
VI.5. DISCUȚII	101
VI.6. CONCLUZII.....	102
STUDIUL VII. EVALUAREA ACTIVITĂȚII ANTIBACTERIENE A RhodOA	103
VII.1. SCOPUL STUDIULUI	103
VII.2. MOTIVAȚIA STUDIULUI	103
VII.3. MATERIALE ȘI METODE.....	104
VII.4. REZULTATE	105

VII.5. DISCUȚII	110
VII.6. CONCLUZII	111
CONCLUZII FINALE	112
CONTRIBUȚII ORIGINALE	113
DIRECȚII PENTRU CERCETĂRI VIITOARE	113
BIBLIOGRAFIA	114

1. INTRODUCERE

Cancerul rămâne una dintre provocările medicinei moderne deoarece reprezintă una dintre cauzele majore de deces la nivel mondial, iar numărul de noi cazuri se află în continuă creștere. Cu toate acestea, opțiunile de tratament sunt încă limitate și sunt asociate cu un număr crescut de reacții toxice la nivel sistemic.

Cancerul cutanat reprezintă un tip de cancer frecvent întâlnit în rândul populației cauziene. Acest tip de cancer prezintă două subtipuri, și anume, cancerul de tip non-melanom și cel de tip melanom. La rândul său, cancerul de tip non-melanom se clasifică în carcinom bazocelular și carcinom scuamocelular. Acest ultim tip de cancer este asociat cu o abilitate crescută de metastazare, fiind asociat cu o letalitate crescută.

Cancerul de plămân este un tip de cancer cunoscut pentru potențialul de invazivitate și metastazare, situându-se în topul tipurilor de cancere cauzatoare de deces la nivel global, atât în rândul femeilor cât și a bărbaților. În prezent, terapia cancerului de plămân include radioterapia, chimioterapia, terapia țintită și intervenția chirurgicală. Cu toate acestea, în prezent, medicina modernă se confruntă cu o mortalitate crescută asociată cancerului pulmonar.

Cel mai comun tip de cancer este cancerul de sân. Acesta reprezintă a doua cauză de deces la nivel global. Cele mai predispuse la apariția acestui tip de cancer sunt femeile cu vârsta cuprinsă între 45-55 de ani. Terapia clasică a cancerului de sân include îndepărtarea chirurgicală a țesutului afectat, chimioterapia, radioterapia și terapia hormonală.

Datorită faptului ca terapia convențională este asociată cu numeroase efecte toxice, iar rezultatele nu sunt mereu pozitive, cercetările recente s-au concentrat pe descoperirea de noi compuși terapeutici care să prezinte o acțiune țintită. Una dintre tintele biologice cercetată pentru efectul antitumoral al compușilor este mitocondria. De asemenea, studiile recente au încercat să se concentreze pe compuși naturali care să posede o acțiune antitumorală selectivă având ca țintă mitocondria. Unul dintre acești compuși de origine naturală este acidul oleanolic. Acțiunile acestui compus sunt documentate în literatură și cuprind efecte precum: antiinflamator, antiioxidant și antitumoral. Cu scopul de a-i mări activitatea biologică, acidul oleanolic a suferit o serie de derivatizări.

Printre aceste derivatizări se numără și conjugarea cu Rhodamina B care are ca scop obținerea unui compus cu acțiune antitumorală selectivă care să prezinte ca loc de acțiune mitocondria și care să poată fi încadrat în categoria compușilor numiți în literatura de specialitate "MITOCAN".

2. SCOPUL CERCETĂRII

Scopul lucrării de față a inclus caracterizarea complexă și evaluarea mecanismului de acțiune antitumoral al unui derivat de acid oleanolic conjugat cu Rhodamina B sintetizat în laboratorul Prof. Dr. Prof. Dr. René Csuk (Halle, Germania) și notat în continuare „RhodOA”, pe diferite modele experimentale *in silico*, *in vitro* și *in vivo*.

Obiectivele specifice au fost următoarele:

1. Evaluarea efectelor *in vitro* ale RhodOA în ceea ce privește proprietățile antioxidante și efectele citototoxice, anitmigratoare și antibacteriene.
2. Evaluarea în detaliu a mecanismului de acțiune prin determinarea modificărilor morfologice celulare și la nivel de organite celulare, precum și, efectul compusului asupra respirației celulare.

I. EVALUAREA *IN SILICO* A MECANISMULUI DE ACȚIUNE ANTIPROLIFERATIV MITOCHONDRIAL AL UNOR DERIVAȚI DE TRITERPENE PENTACICLICE

Scopul primului studiu a fost evaluarea prin intermediul andocării moleculare a mecanismului de acțiune la nivelul mitocondriei a unor derivați de triterpene pentaciclice conjugați cu Rhodamina B.

Structurile proteice necesare acestui studiu au fost disponibile de la Protein Data Bank RCSB. Softul folosit pentru andocarea moleculară folosit a fost Autodock Tools 1.5.6. Moleculele ligand corespunzătoare derivaților triterpenici conjugați cu Rodamina B au fost: acidul betulinic, acidul gliciretic, acidul maslinic, acidul oleanolic, acidul platanic și acidul ursolic. Structurile au fost desenate folosind Biovia Draw și au fost convertite în format 3D folosind softul Open Babel al OyRx. În final, scorurile înregistrate pentru moleculele ancorate au fost obținute sub formă de valori ale energiei de legare liberă (kcal/mol). Modelele de legare a proteinelor ligand au fost analizate folosind softul Accelrys Discovery Studio 4.1.

Rezultatele obținute au arătat faptul că derivatul de acid oleanolic conjugat cu Rhodamina B are valori remarcabile de energie în cazul proteinelor NDH și SDH care sunt, de fapt, complexe I și II ale lanțului de transport al electronilor. Aceste rezultate sugerează faptul că derivatul de acid oleanolic prezintă efecte asupra viabilității celulare ca urmare a acțiunii la nivelul mitocondriei.

II. EVALUAREA CAPACITĂȚII ANTIOXIDANTE ALE DERIVATULUI DE ACID OLEANOLIC CONJUGAT CU RHODAMINA B

Scopul studiului a fost evaluarea efectului antioxidant atât al derivatului de acid oleanolic, cât și a Rhodaminei B pure, neconjugate. Numeroase studii din domeniu s-au concentrat pe efectul antioxidant asupra acidului oleanolic, iar descoperirile recente au arătat faptul că acesta prezintă un efect antioxidant atât prin reacția directă cu speciile reactive de oxigen cât și prin creșterea expresiei enzimelor antioxidante precum catalaza și tioredoxin peroxidaza.

Pentru evaluarea capacității antioxidante a RhodOA și Rhod a fost utilizată metoda DPPH. Au fost testate cinci concentrații ale derivatului de acid oleanolic (20, 40, 60, 80 și 100 nM) precum și cinci concentrații de Rhodamina B neconjugată (20, 40, 60, 80 și 100 nM). Ca și etalon pentru activitatea antioxidantă a fost folosit acidul ascorbic.

Rezultatele obținute au evidențiat faptul că atât RhodOA cât și Rhod au prezentat o activitate antioxidantă similară acidului ascorbic atunci când DPPH a fost folosit în concentrație de 0.1 mM. Ambii compuși au prezentat o activitate antioxidantă de aproximativ 80%, comparativ cu activitatea acidului ascorbic de aproximativ 94%. În ceea ce privește activitatea antioxidantă a RhodOA și Rhod atunci când a fost folosit DPPH cu concentrație de 1 mM, s-a observat faptul că aceștia au o activitate antioxidantă mai scăzută, dar, cu toate acestea, valorile obținute pentru activitatea antioxidantă au fost peste 50%.

În concluzie, RhodOA prezintă o activitate antioxidantă puternică, similară cu cea a acidului ascorbic, atunci când DPPH este folosit în concentrație de 0.1 mM. Cu toate acestea, atunci când DPPH este folosit în concentrație de 1 mM, activitatea antioxidantă a compuşilor este mai scăzută, dar, se situează peste 50%.

III. ACTIVITATEA CITOTOXICĂ ŞI ANTIPROLIFERATIVĂ A RhodOA COMPARATIV CU CEA A ACIDULUI OLEANOLIC

Scopul acestui studiu a fost evaluarea efectului citotoxic şi antimigrator al RhodOA comparativ cu cea a acidului oleanolic pur, nederivatizat, asupra liniei celulare sănătoase de keratinocite umane – HaCaT şi asupra liniilor celulare tumorale de melanom uman – A375, adenocarcinom pulmonar – A549 şi adenocarcinom de sân – MDA-MB-231. Efectul de scădere a viabilităţii celulare produs de către RhodOA şi Rhod a fost determinat prin intermediul testului MTT, iar capacitatea de inhibare a proliferării celulare a fost evaluată prin utilizarea tehnicii scratch. Pentru a evalua efectul citotoxic, celulele au fost stimulate timp de 24, 48 şi 72 de ore cu cinci concentraţii de RhodOA (20, 40, 60, 80 şi 100 nM), cinci concentraţii de Rhodamina B neconjugată (20, 40, 60, 80 şi 100 nM) şi cinci concentraţii de acid oleanolic pur (20, 40, 60, 80 şi 100 nM).

Rezultatele obţinute au arătat faptul că RhodOA prezintă un efect citotoxic dependent de timp şi doza utilizată. Efectul de scădere a viabilităţii celulare produs de către RhodOA s-a observat doar în cazul liniilor celulare tumorale, în timp ce, linia celulară sănătoasă de keratinocite umane nu a fost afectată. În acelaşi timp, Rhodamina B neconjugată nu a prezentat efecte vizibile asupra viabilităţii celulare. Comparativ cu efectul derivatului RhodOA, acidul oleanolic, nu a prezentat un efect major asupra viabilităţii celulare. Valoarea viabilităţii celulare s-a situat în jurul valorii de 90-100% chiar şi după o stimulare de 72 de ore.

În concluzie, prin derivatizarea acidului oleanolic şi conjugarea cu Rhodamina B se obţine un compus cu o activitate antitumorală mărită. Un aspect important îl constituie faptul că derivatul de acid oleanolic nu prezintă efecte toxice asupra keratinocitelor umane sănătoase, acest lucru indicând selectivitatea faţă de celulele tumorale.

IV. TEHNICA IMUNOFLUORESCENŢEI

Scopul acestui studiu a fost evaluarea modificărilor produse de către RhodOA asupra nucleului, mitocondriei şi fibrelor de actină, oferindu-se astfel o imagine mai complexă asupra mecanismului de acţiune al derivatului de acid oleanolic.

Tehnica imunofluorescenţei s-a realizat pe linia celulară tumorală de melanom uman – A375 şi pe linia celulară de keratinocite umane – HaCaT. Linia celulară tumorală a fost aleasă în urma rezultatelor obţinute prin tehnica MTT, A375 fiind cea mai afectată linie celulară tumorală. RhodOA a fost testat în patru concentraţii diferite, trei dintre ele utilizate mai apoi în evaluarea efectului asupra respiraţiei celulare (10, 20 şi 30 nM) şi cea mai mare concentraţie utilizată în studiul de viabilitate celulară (100 nM). Pentru vizualizarea nucleului s-a folosit coloraţia DAPI, pentru vizualizarea fibrelor de actină a fost folosit anticorpus Alexa Fluor® 555 Phalloidin, iar pentru vizualizarea mitocondriei a fost folosit Anti-COX IV antibody Mitochondrial marker.

Rezultatele obținute au evidențiat faptul că derivatul de acid oleanolic determina modificări la nivelul tuturor organelor urmărite în acest studiu, în cazul liniei celulare de melanom uman. Astfel, la nivelul nucleului s-a observat o condensare a cromatinei caracteristică procesului de moarte celulară survenită prin apoptoză. La nivelul fibrelor de actină, s-a observat că cea mai mare concentrație testată de RhodOA, 100 nM, determină o condensare a fibrelor de actină. În final, la nivelul mitocondriei s-a observat o creștere a numărului de mitocondrii localizate predominant în jurul nucleului. Toate aceste modificări nu au fost observate, însă, în cazul keratinocitelor umane sănătoase, acest lucru sugerând faptul că derivatul prezintă un efect selectiv asupra celulelor de melanom.

În concluzie, derivatul de acid oleanolic este capabil să producă modificări ale morfologiei nucleului, mitocondriei și fibrelor de actină. Important de subliniat este faptul că aceste modificări au fost observate exclusiv în cazul liniei celulare tumorale. Din acest motiv, putem deduce faptul că prin derivatizarea acidului oleanolic se obține un compus cu o activitate biologică marită și selectivă.

V. STUDII DE RESPIRAȚIE CELULARĂ

Scopul acestui studiu a fost evidențierea efectelor produse de către derivatul de acid oleanolic asupra respirației celulare, atât în cazul liniei celulare tumorale de melanom uman, cât și în cazul liniei celulare sănătoase de keratinocite umane. Pentru determinarea efectului asupra respirației celulare, au fost testate trei concentrații diferite de RhodOA (10, 20 și 30 nM), iar respirația celulară a fost determinată prin intermediul studiilor de respirometrie de înaltă rezoluție (Oxygraph-2k Oroboros Ltd.).

În ceea ce privește efectele derivatului de acid oleanolic asupra liniei de keratinocite umane, rezultate obținute au arătat faptul că RhodOA determină o creștere a tuturor ratelor respiratorii. Pe de altă parte, asupra liniei de melanom uman, RhodOA, determină într-o manieră dozo-dependentă, o scădere a ratelor respiratorii. Din acest motiv, se poate afirma faptul că RhodOA determină o scădere a consumului de oxigen. În plus, s-a observat că RhodOA determină o inhibare a respirației active și o scădere a capacității respiratorii maxime a sistemului de transfer de electroni. Pe lângă aceste modificări, RhodOA determină și o scădere dependentă de doza testată a respirației bazale.

Prin determinarea efectului RhodOA asupra respirației celulare, putem concluziona că aceasta determină o scădere a tuturor frecvențelor respiratorii în cazul liniei celulare de melanom uman, în timp ce în cazul liniei celulare de keratinocite umane sănătoase, nu are niciun efect toxic. Corelând efectul antitumoral observat în studiile de viabilitate și imunofluorescență cu efectul asupra funcției mitocondriale, putem concluziona că noul derivat al acidului oleanolic conjugat cu Rodamina B poate fi clasificat ca "MITOCAN".

VI. METODA MEMBRANEI CORIOALANTOIDE

Scopul acestui studiu a fost observarea efectului compusului RhodOA asupra vaselor de sânge în ceea ce privește efectul antiangiogenic al acestuia, dar și observarea potențialului efect iritativ și anti-iritativ al derivatului asupra membranei corioalantoide.

Pentru determinarea efectului exercitat de RhodOA asupra angiogenezei, au fost testate cinci concentrații de derivat (20, 40, 60, 80 și 100 nM), iar ouale au fost observate timp de cinci zile. În ceea ce privește efectul iritativ și anti-iritativ al derivatului de acid oleanolic, acesta a fost testat în două concentrații, 80 și 100 nM, iar modificările produse la nivelul vaselor de sânge ale membranei corioalantoide au fost observate timp de cinci minute.

Rezultatele obținute au evidențiat faptul că după trei zile de aplicare a derivatului asupra membranei corioalantoide, acesta determină o scădere a numărului de capilare nou formate. Cel mai puternic efect anti-angiogenic a fost observat în cazul concentrației de 100 nM. În ceea ce privește potențialul efect iritativ al derivatului, acesta nu a fost observat nici în cazul celei mai mari concentrații testate. După aplicarea concentrației de 100 nM, nu au fost observate modificări ale vaselor de sânge. În schimb, atunci când RhodOA este aplicat înainte de aplicarea dodecilsulfonatului de sodiu (SDS) cunoscut ca fiind un iritant pentru vasele de sânge, RhodOA determină o scădere a efectului iritant al SDS.

În concluzie, RhodOA prezintă o activitate biologică crescută, având un efect pronunțat asupra angiogenezei. În ceea ce privește efectul iritant, acesta nu a fost observat asupra membranei corioalantoide, chiar și la cea mai mare concentrație testată. De asemenea, RhodOA nu a produs modificări majore ale vaselor de sânge și nu a influențat viabilitatea embrionilor de pui.

VII. EVALUAREA ACTIVITĂȚII ANTIMICROBIENE A RhodOA

Scopul studiului a fost evaluarea activității antimicrobiene a derivatului de acid oleanolic asupra mai multor specii bacteriene (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*).

Activitatea antimicrobiană a fost determinată prin metoda de difuziune în agar. Ca și control a fost folosită gentamicina pentru bacili și stafilococi și gentamicina pentru streptococi și enterococi.

Rezultatele obținute au sugerat că derivatul de acid oleanolic prezintă o activitate antibacteriană ușor superioară antibioticului control în cazul speciilor *Streptococcus mutans* și *pyogenes*. În ceea ce privește restul speciilor bacteriene, activitatea RhodOA la cea mai mare concentrație testată (100 nM) a fost similară cu cea a antibioticului control. Excepția, în care RhodOA a arătat o activitate antibacteriană mai mică decât cea a antibioticului control a fost observată în cazul *Escherichia coli* și *Klebsiella pneumoniae*.

În concluzie, derivatul acidului oleanolic, RhodOA, este un potențial agent antibacterian în infecția cu *Streptococcus pyogenes* și *Streptococcus mutans* atunci când este utilizat la o concentrație de 100 nM. Cu toate acestea, sunt necesare studii suplimentare pentru a elucida mecanismul acțiunii antibacteriene.

CONCLUZII FINALE

Caracterizarea derivatului de acid oleanolic conjugat cu rodamina B a condus la următoarele concluzii finale:

1. Studiul *in silico* efectuat prin aplicarea abordării de andocare moleculară a relevat că RhodOA, derivatul DE acidului oleanolic conjugat cu rodamina B, vizează mitocondriile prin legarea de proteinele specifice complexelor I și II ale respirației celulare

2. RhodOA a arătat un efect antioxidant puternic comparabil cu acidul ascorbic în proiectul experimental utilizat prin utilizarea testului de eliminare a radicalilor DPPH 0,1 mM.

3. RhodOA a exercitat un efect citotoxic dependent de doză și timp asupra tuturor liniilor celulare tumorale testate (A375, A549 și MDA-MB-231), linia celulară de melanom - A375 fiind cel mai susceptibil la efectul compusului. Cel mai semnificativ efect citotoxic a fost observat după un tratament de 72 de ore. În plus, compusul a prezentat un profil sigur la keratinocite umane, sugerând un comportament citotoxic selectiv orientat către celulele tumorale.

4. Activitatea citotoxică indusă de RhodOA în celulele melanomului se caracterizează prin apariția semnelor specifice apoptotice, ca: modificări ale formei celulelor (celule rotunjite) cu condensare a fibrelor de actină la margini și fragmentare nucleară și condensare. Nu au fost detectate modificări morfologice la keratinocitele umane în urma tratamentului cu RhodOA, evidențiind comportamentul citotoxic selectiv.

5. Administrarea acută de RhodOA pe celulele melanomului uman permeabilizat a determinat o scădere a respirației celulare caracterizată printr-o scădere a tuturor ratelor parametrilor respiratori mitocondriali, inclusiv respirația bazală, respirația activă și capacitatea respiratorie maximă. Acest efect a fost observat numai în celulele melanomului, la keratinocitele umane - HaCaT fiind descris un efect stimulator.

6. RhodOA a dovedit un efect antiangiogen moderat asupra vaselor de sânge ale membranei corioalantoice a puilor de găină, un efect iritant foarte scăzut asupra membranei corioalantoice și un efect antiiritant moderat.

7. RhodOA a prezentat activitate antibacteriană semnificativă numai împotriva tulpinilor de *Streptococcus pyogenes* și *Streptococcus pyogenes* atunci când este utilizat la o concentrație de 100 nM.

CONTRIBUȚII ORIGINALE

Contribuțiile originale pot fi rezumate după cum urmează:

1. Evaluarea mecanismului de acțiune mitocondrial a unei serii de derivați triterpenici, inclusiv al derivatul de acid oleanolic conjugat cu rodamina B

2. Evaluarea activității antioxidante a RhodOA comparativ cu Rhod și Vitamina C.

3. Evaluarea activității citotoxice a RhodOA pe mai multe tipuri de linii celulare tumorale, precum și a capacității RhodOA de a inhiba migrarea celulară

4. Evaluarea capacității RhodOA de a modifica morfologia nucleului, mitocondriilor și fibrelor de actină pentru a determina mecanismul de acțiune antitumoral

5. Evaluarea efectului asupra respirației celulare de către RodOA atât în cazul liniei celulare de melanom uman, cât și în cazul liniei de keratinocite umane sănătoase
6. Evaluarea activității antiangiogene și a potențialului efect iritant și anti-iritant al RhodOA asupra membranei corioalantoide
7. Evaluarea activității antibacteriene a RhodOA asupra mai multor tulpini bacteriene.

Cuvinte cheie: derivat acid oleanolic, melanom, cancer de plămân, cancer de sân, respirație celulară, mitocondrii, activitate antioxidantă, activitate antimicrobiană

LISTA ARTICOLELOR PUBLICATE

1. **Ioana Macașoi**, Marius Mioc, Delia Berceanu Vaduva, Roxana Ghiulai, Alexandra Mioc, Codruta Șoica, Danina Muntean, Victor Dumitrașcu. *In silico Evaluation of the Antiproliferative Mitochondrial Targeted Mechanism of Action of Some Pentacyclic Triterpene Derivatives*. **Rev Chem (Bucharest)**. **2019**; 69, 3361-3363.

(ISI journal, IF: 1.755)

2. **Ioana Macașoi**, Alexandra Mioc, Marius Mioc, Roxana Racoviceanu, Irina Soica, Adelina Chevereșan, Cristina Dehelean, Victor Dumitrașcu. *Targeting Mitochondria through the Use of Mitocans as Emerging Anticancer Agents*. **Curr Med Chem**. **2020**; 27(34):5730-5757. doi: 10.2174/0929867326666190712150638.

(ISI journal, IF: 4.184)

3. **Ioana Macașoi**, Ioana Zinuca Pavel, Alina Elena Moacă, Ștefana Avram, Vlad Laurențiu David, Dorina Coricovac, Alexandra Mioc, Demetrios Spandidos, Aristidis Tsatsakis, Codruța Șoica, Victor Dumitrașcu, Cristina Dehelean. *Mechanistic investigations of antitumor activity of a Rhodamine B-oleanolic acid derivative bioconjugate*. **Oncol Rep**. **2020**; 44(3):1169-1183. doi: 10.3892/or.2020.7666.

(ISI journal, IF: 3.67)

