

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
"VICTOR BABEȘ" DIN TIMIȘOARA
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ**



**INVESTIGAȚII CLINICE ȘI PARACLINICE
ALE COMPUȘILOR NATURALI ȘI SINTETICI
CU ACTIVITATE BIOLOGICĂ, INCLUSIV
ANTIMICROBIANĂ ȘI ANTICANCEROASĂ**

REZUMAT

Conferențiar universitar MIRELA VOICU

**Timișoara
2025**

Teza de abilitare, intitulată "Investigații clinice și paraclinice ale compușilor naturali și sintetici cu activitate biologică, inclusiv antimicrobiană și anticanceruasă" prezintă evoluția mea academică în ultimii 16 ani (2009-2025) în urma susținerii tezei de doctorat în octombrie 2009 (OMS 6026/27.11.2009). Teza de abilitare este alcătuită din patru capitole principale. Primul capitol descrie pe scurt realizările mele științifice, în timp ce al doilea și al treilea capitol prezintă realizările mele academice și, respectiv, activitatea profesională. Ultimul capitol constă în perspectivele mele academice și științifice. Realizările mele științifice au rezultat din cercetarea mea multidisciplinară întreprinsă în domeniul științelor biomedicale, care includ trei direcții principale de cercetare descrise în 3 subcapitole.

Primul subcapitol abordează studiul activității anticancerigene al unor compuși naturali și sintetici. Au fost descrise mai multe tipuri de compuși, începând cu triterpenele și acizii triterpenici care au fost cercetați în ceea ce privește implicarea lor potențială în cancerule dependente de hormoni sexuali. În plus, prin proiectarea de derivați semisintetici cu eficacitate farmacologică mai mare și toxicitate mai mică, este posibil să se îmbunătățească profilul farmacocinetic negativ al triterpenoidelor cauzat de solubilitatea lor slabă în apă; Utilizarea nanotehnologiei este o a doua alternativă promițătoare. De asemenea, am efectuat o cercetare a mecanismelor moleculare care stau la baza activității terapeutice a triterpenelor; au fost evaluate 178 de lucrări privind activitatea biologică a unor acizi triterpenici. Au fost identificate numeroase căi de semnalizare care provoacă efecte farmacologice (anticancerigene, antiinflamatorii, antidiabetice, antioxidante, cardioprotectoare, hepatoprotectoare, neuroprotectoare, antimicrobiene etc.) *in vitro* și *in vivo*, prin revizuirea literaturii de specialitate aferentă acestor fitocompuși. Folosind alcool izopropilic ca solvent, am efectuat un studiu care reprezintă prima încercare de a genera și caracteriza cocristale crescute lent de acid ascorbic și acid betulinic. Obiectivul nostru a fost de a evalua efectul sinergic/aditiv al cocrystalizării în raport cu activitatea antioxidantă substanțială a ambilor compuși, care a fost deja documentată, precum și faptul că o căutare în baza de date Cambridge nu a dezvăluit nicio dovadă a unui cocrystal BA+VitC. Am obținut un model experimental de melanom folosind șoareci adulți, femele, Balb/c care au fost ținuti în condiții standard și împărțiți în patru grupuri, cu 5 șoareci/grup. Un astfel de grup a fost imunosupresat prin utilizarea ciclofosfamidei, în timp ce un alt grup a fost atât imunosupresat, cât și xenogrefat cu celule de melanom A375. Am monitorizat greutatea șoarecilor după ultima doză de ciclofosamidă și pe tot parcursul studiului,

deoarece imunosupresia este de obicei asociată cu scăderea greutatei. De asemenea, am monitorizat parametrii biochimici și fiziologici ai pielii, cum ar fi pierderea de apă transepidermică, eritemul și nivelul de hidratare al pielii. Triterpenele cu inele tetraciclice și pentaciclice au fost, de asemenea, implicate în studii axate pe efectele lor benefice în vindecarea rănilor, inclusiv investigarea mecanismelor lor moleculare. Am publicat o evaluare comprehensivă a acestor compuși cu scopul de a colecta principalele rezultate ale studiilor *in vitro*, *in vivo* și clinice efectuate pe mai multe tipuri de triterpene care pot fi utilizate ca tratament în vindecarea rănilor.

Albendazolul a fost investigat pentru a dezvolta un nou sistem de livrare cu activitate antitumorală îmbunătățită. Nanoparticulele de poliuretan încărcate cu albendazol au fost preparate prin policondensare interfacială combinată cu emulsionare spontană; ulterior au fost efectuate analize fizico-chimice și biologice.

Un alt studiu s-a concentrat pe conceperea de compuși cu activitate anticanceroasă prin utilizarea screening-ului virtual bazat pe docking la nivelul a două proteine cheie active, VEGFR-2 și EGFR-1. Am creat o bibliotecă de derivați de 3-mercapto-1,2,4-triazol cu diverși substituenți grefați pe inelul 1,2,4-triazol, despre care se știe că prezintă mai multe activități biologice, inclusiv anticanceroase. Deoarece un număr exponențial de lucrări abordează nanoparticule de aur de diferite forme care pot fi utilizate în scopuri biomedicale, ne-am propus să trecem în revistă cele mai recente progrese în domeniu, în special implicațiile nanoparticulelor de aur în transportul de medicamente și bioimagică. Mai multe metode, chimice, fizice și biologice, sunt disponibile pentru sinteza acestora în funcție de forma și dimensiunea lor. De asemenea, am investigat compoziția chimică a extractelor vegetale (cafea verde, cimbru) urmată de evaluările lor în ceea ce privește activitatea anticanceroasă.

Al doilea subcapitol descrie studiul substanțelor cu acțiune antimicrobiană și al rezistenței bacteriilor la acestea. Ne-am propus să cuantificăm ponderea infecțiilor nosocomiale într-o unitate din România în ceea ce privește consumul și costurile aferente compușilor antimicrobieni și să identificăm modelele locale de rezistență pentru a investiga în continuare strategiile intervenționale multimodale. Un alt studiu s-a axat pe evaluarea consumului relativ de antibiotice în secțiile chirurgicale în primul trimestru al anului 2015 față de aceeași perioadă de timp din 2016, însoțită de evoluția tulpinilor Gram negative rezistente la antibiotice. Scopul unui alt studiu a fost de a analiza căile prin care microorganismele obțin rezistență la beta-lactamice, pentru a introduce tratamente țintite pentru pacienții infecțioși. De asemenea, am efectuat un

studiu care a vizat evaluarea nanoparticulelor de argint biosintetizate în ceea ce privește activitatea lor antimicrobiană în comparație cu antibioticele utilizate în prezent în tratamentul infecțiilor cauzate de *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* și *Streptococcus pneumoniae*. Scopul unui alt studiu a fost de a sintetiza structuri poliuretane capabile să înglobeze eugenol pentru a prelungi efectele biologice ale acestuia în terapia orală.

Epidemia globală COVID-19 a fost declanșată de apariția coronavirusului sindromului respirator acut 2 (SARS-CoV-2) în decembrie 2019, cu rate crescute de mortalitate și morbiditate la nivel mondial. Am evaluat expresia microARN-urilor în secrețiile bronșice colectate postmortem în cazurile pozitive și negative de SARS-CoV-2 pentru a stabili potențiala lor utilizare ca biomarkeri predictivi în infecția cu SARS-CoV-2.

Cel de-al treilea subcapitol a reunit studii observaționale și clinice efectuate la pacienți spitalizați în spitalele publice din Timișoara pe medicamente antihipertensive, automedicație precum și antiinflamatoare nesteroidiene. În cele din urmă, am publicat un studiu de literatură privind efectele secundare neurologice ale inhibitorilor TNF- α , care reprezintă în continuare principala opțiune terapeutică împotriva bolilor inflamatorii mediate imun. Inhibitorii TNF- α au fost introduși în terapie în urmă cu mai bine de două decenii, ca tratament împotriva artritei reumatoide, dar în prezent au fost emise noi aprobări pentru alte afecțiuni autoimune.

După finalizarea tezei de doctorat în anul 2009 mi-am continuat activitatea de cercetare științifică care s-a concretizat în publicarea a 26 articole în extenso, publicate în reviste indexate ISI cu factor de impact, 10 ca autor principal; dintre acestea, 13 articole au fost publicate în reviste din cuartila Q1 (zona roșie) sau Q2 (zona galbenă) conform scorului de influență sau factorului de impact. Totalul factorului de impact este 67.847, iar factorul de impact cumulat ca autor principal este 34.045. Relevanța activității științifice este reflectată de indexul Hirsch: 12 (WOS), 11 (Scopus). Am participat ca și autor principal/co-autor la peste 100 rezumate științifice publicate cu ocazia unor manifestări științifice naționale/internaționale. Sunt coautor a 12 capitole/cărți de specialitate și a unui capitol publicat în stăinătate. Sunt co-autor a 8 lucrări științifice premiate la nivel național: Premii UEFISCDI 2017, 2019, 2020, 2021, 2022.

Al doilea capitol al tezei de abilitare este dedicat realizărilor mele academice. Mi-am început cariera academică în februarie 2001 ca asistent universitar la

Universitatea de Medicină și Farmacie “Victor Babeș” din Timișoara, Facultatea de Farmacie, Disciplina de Farmacologie. În 2008 am promovat prin concurs ca șef de lucrări, la aceeași disciplină; în anul 2021 am ocupat prin concurs poziția de conferențiar universitar. În anul 2009 am susținut teza de doctorat cu titlul: “Corelații între antibiorezistența unor tulpini bacteriene și consumul de chimioterapice antiinfecțioase dintr-o secție de Terapie Intensivă”. În perioada 2010-2011 am urmat cursurile de master „Managementul farmacoterapiei la persoanele vârstnice” din cadrul Facultății de Farmacie a UMFT. În această perioadă am susținut cursuri și stagii practice la seriile în limba română și franceză ale Facultății de Farmacie și Colegiului de Asistență de farmacie: Farmacologie, Microbiologie, Imunologie; am introdus unele cursuri postuniversitare adresate rezidenților și farmaciștilor specialiști. Am revizuit permanent cursurile predate, fiind coautor a 11 capitole/cărți de specialitate. Am coordonat lucrările de licență a 52 de studenți și lucrările de dizertație a 16 masteranzi. În perioada 2002-2021 am făcut parte din echipa de supraveghere a examenelor de admitere și licență; în perioada 2005-2021 am fost membră în comisia de evaluare a examenului de licență la Facultatea de Farmacie, iar în perioada 2009-2018 am fost membră în comisia de rezidențiat a UMFVBT. Din 2002 am participat ca membră în comisiile de concurs pentru ocuparea unor poziții didactice și de cercetare în cadrul Facultății de Farmacie a UMFVBT. Sunt membră în societăți științifice și profesionale: Societatea de Științe Farmaceutice din România (secțiunea Farmacie clinică), Societatea Europeană de Farmacie clinică, Societatea Internațională de Farmacologie IUPHAR, Societatea Română de Farmacologie, Terapeutică și Toxicologie clinică, Colegiul Medicilor din România, filiala Timiș.

Capitolul III prezintă realizările mele profesionale începând cu absolvirea Facultății de Medicină în anul 1996. În anul 2000 mi-am început specializarea în medicină de laborator, devenind specialist în 2005. Am devenit medic primar în medicină de laborator în 2018, cu integrare clinică în cadrul Spitalului Județean “Pius Brânzeu” Timișoara, în compartimentul de Imunologie-Biochimie al Laboratorului clinic de analize medicale.

Capitolul patru este dedicat perspectivelor mele academice și științifice. Din punct de vedere academic, doresc să mă perfecționez în continuare în domeniul medicinei de laborator, acționând simultan în trei direcții: didactic, clinic și științific. Obiectivul principal constă în modernizarea continuă a cursurilor de imunologie și microbiologie și editarea de materiale didactice în domeniu, cu abordarea în particular

a aspectelor și aptitudinilor practice. Intenționez să lărgesc paleta de cursuri postuniversitare și să mențin un stil didactic centrat pe student și care integrează abordări interactive. În plus, odată cu obținerea atestatului de abilitare, doresc să coordonez studiile doctorale în domeniu.

În plan științific, doresc să continui direcțiile de cercetare abordate până în prezent dar și să abordez noi opțiuni. Intenționez să continui publicarea unor articole științifice în colaborare cu colegii din disciplină dar și din alte facultăți sau universități și să particip la implementarea și desfășurarea unor proiecte de cercetare naționale și internaționale. Colaborarea cu alte discipline (biochimie, morfopatologie) ar putea conduce la identificarea unor noi markeri tumorali care ar putea fi utilizați în detectarea precoce ale modificărilor la nivel molecular produse de tumori, făcând astfel posibilă intervenția terapeutică mai rapidă.

Secțiunea finală a tezei de abilitare este dedicată referințelor bibliografice care au servit drept fundament pentru elaborarea prezentei teze, împreună cu lista principalelor publicații științifice.

**"VICTOR BABEȘ" UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY
FROM TIMIȘOARA
DOCTORAL SCHOOL
MEDICINE DOMAIN**



**CLINICAL AND PARACLINICAL INVESTIGATIONS
OF NATURAL AND SYNTHETIC COMPOUNDS
WITH BIOLOGICAL ACTIVITY, INCLUDING
ANTIMICROBIAL AND ANTICANCER**

ABSTRACT

Associate Professor MIRELA VOICU

**Timișoara
2025**

The habilitation thesis, entitled “Clinical and paraclinical investigations of natural and synthetic compounds with biological activity, including antimicrobial and anticancer” presents my academic evolution in the last 16 years (2009-2025) following the defense of my doctoral thesis in October 2009 (WHO 6026/27.11.2009). The habilitation thesis consists of four main chapters. The first chapter briefly describes my scientific achievements, while the second and third chapters present my academic achievements and professional activity, respectively. The last chapter consists of my academic and scientific perspectives. My scientific achievements resulted from my multidisciplinary research undertaken in the field of biomedical sciences, which include three main research directions described in 3 subchapters.

The first subchapter approaches the study of anticancer activity in natural and synthetic compounds. Several types of compounds were described, starting with triterpenes and triterpenic acids which were reviewed in terms of their potential involvement in sex hormone-dependent cancers. Additionally, by designing semisynthetic derivatives with higher pharmacological efficacy and lower toxicity, it is possible to overcome the negative pharmacokinetic profile of triterpenoids caused by their poor water solubility; the use of nanotechnology is a second promising alternative. I also conducted a review on the molecular mechanisms underlying the therapeutic activity of triterpenes; 178 papers were assessed regarding the biological activity of certain triterpenic acids. Numerous signaling pathways that cause particular pharmacological effects (anticancer, anti-inflammatory, antidiabetic, antioxidant, cardioprotective, hepatoprotective, neuroprotective, antimicrobial, etc.) *in vitro* and *in vivo* were identified by the literature review on these phytochemicals. Using isopropyl alcohol as a solvent, we carried out a study that stands as the first approach to generate and characterize slowly grown cocrystals of ascorbic acid and betulinic acid. Our objective was to evaluate the synergistic/additive effect of cocrystallization in relation to the substantial antioxidant activity of both compounds that has already been documented as well as the fact that a search of the Cambridge database revealed no evidence of a BA+VitC cocrystal. We obtained an experimental model of melanoma by using adult, female, Balb/c mice that were kept in standard conditions and divided into four groups, with 5 mice/group. One such group were immunosuppressed by using cyclophosphamide while another group were both immunosuppressed and xenografted with A375 melanoma cells. We monitored mice weight after the last dose of cyclophosphamide and throughout the study since immunosuppression is usually

associated with weight decrease. We also monitored the skin biochemical and physiological parameters such as transepidermal water loss, erythema and skin hydration level. Triterpenes with both tetracyclic and pentacyclic rings were also involved in studies focused on their beneficial effects in wound healing including the investigation of their molecular mechanisms. We published a comprehensive review aiming to collect the main results of *in vitro*, *in vivo* and clinical studies conducted on several types of triterpenes that may be engaged as treatment in wound healing.

Albendazol was investigated in order to develop a novel delivery system with improved antitumor activity. Polyurethane nanoparticles loaded with albendazole were prepared through interfacial polycondensation combined with spontaneous emulsification; subsequently physicochemical and biological analysis was conducted.

Another study focused on suggesting compounds with anticancer activity by using docking-based virtual screening against two active key proteins, VEGFR-2 and EGFR-1. We created a library of 3-mercapto-1,2,4-triazole derivatives with various substituents on the 1,2,4-triazole ring which are known to exhibit multiple biological activities, including anticancer. Since an exponentially growing number of papers approach variously shaped gold nanoparticles that can be used for biomedical purposes, we aimed to review the most recent advances in the field, particularly the implications of gold nanoparticles in drug delivery and bioimaging. Several methods, chemical, physical and biological, are available for GNPs synthesis depending on their shape and size. I also investigated the chemical composition of vegetal extracts (green coffee, thyme) followed by their assessments in terms of anticancer activity.

The second subchapter describes the study of antimicrobials and antimicrobial resistance. We aimed to quantify the burden of hospital-acquired infections in a Romanian facility in terms of antimicrobial consumption and costs and to identify the local resistance patterns in order to further investigate multimodal interventional strategies. Another study focused on the assessment of the relative antibiotic consumption in the surgical departments in the first trimester of 2015 versus the same time period in 2016 accompanied by the evolution of antibiotic-resistant Gram negative strains. The aim of another study was to analyze the pathways for microorganisms to achieve resistance to beta-lactams in order to introduce targeted treatments for infectious patients. We also conducted a study that aimed the evaluation of biosynthesized silver nanoparticles in terms of antimicrobial activity by comparison to antibiotics currently used in the treatment of infections caused by *Pseudomonas*

aeruginosa, *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae*. The aim of another study was to prepare polyurethane structures able to entrap eugenol in order to prolong its biologic effects in oral therapy.

The global outbreak of COVID-19 pandemics was triggered by the occurrence of the acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in December 2019, with increased rates of mortality and morbidity worldwide. We assessed the expression of microRNAs in bronchial secretions collected postmortem in positive and negative SARS-CoV-2 cases in order to clearly establish their potential use as predictive biomarkers in SARS-CoV-2 infection.

The third subchapter reunited observational and clinical studies conducted in hospitalized patients in Timisoara public hospitals on antihypertensive medication, self medication as well as non-steroidal antiinflammatory drugs. Finally, we published a review regarding the neurological side effects of TNF- α inhibitors that still represent the main therapeutic option against immune-mediated inflammatory diseases. TNF- α inhibitors were introduced in therapy more than two decades ago as treatment against rheumatoid arthritis, but currently new approvals have been issued for other autoimmune conditions.

After completing my doctoral thesis in 2009, I continued my scientific research activity which resulted in the publication of 26 articles in extenso published in ISI indexed journals with impact factor, 10 as main author; of these, 13 articles were published in quartilla journals Q1 (red area) or Q2 (yellow zone) according to influence score or impact factor. The total impact factor is 67.847, and the cumulative impact factor as main author is 34.045. The relevance of scientific activity is reflected in the Hirsch index: 12 (WOS), 11 (Scopus). I participated as main author / co-author in over 100 scientific abstracts published on the occasion of national/international scientific events. I am co-author of 12 specialized chapters/books and also published a book chapter in an international publishing house. I am a co-author of 8 nationally awarded scientific works: UEFISCDI Awards: 2017, 2019, 2020, 2021, 2022.

The second chapter of my habilitation thesis is dedicated to my academic achievements. I started my academic career in February 2001 as an assistant at the "Victor Babeş" University of Medicine and Pharmacy in Timisoara, Faculty of Pharmacy, Pharmacology Discipline. In 2008 I was promoted to lecturer, in the same discipline. In 2021 I took the position of associate professor by competition. In 2009 I defended my doctoral thesis entitled: "Correlations between antibiotic resistance of

certain bacterial strains and the consumption of anti-infective chemotherapeutics in an Intensive Care Unit". During 2010-2011 I attended the master's course "Management of pharmacotherapy in the elderly" at the Faculty of Pharmacy of the University of Medicine and Pharmacy Timisoara.

During this period, I held courses and internships at the Romanian and French series of the Faculty of Pharmacy and the Pharmacy Assistant College: Pharmacology, Microbiology, Immunology; I have introduced some postgraduate courses for residents and specialist pharmacists. I reviewed and completed the courses, being co-author of 11 teaching materials for students and residents. I coordinated the diploma studies of 52 students and the dissertation works of 16 master's students. During 2002-2021 I was part of the team supervising the entrance and license exams; Between 2005 and 2021, I was a member of the examination evaluation committee for the Bachelor's degree at the Faculty of Pharmacy, and between 2009 and 2018, I was a member of the residency committee at UMFVBT. Since 2002, I have participated as a member in the competition committees for teaching and research positions within the Faculty of Pharmacy of UMFVBT. I am a member of numerous scientific societies: The Society of Pharmaceutical Sciences of Romania (Clinical Pharmacy section), the European Society of Clinical Pharmacy, the International Union of Basic and Clinical Pharmacology (IUPHAR), the Romanian Society of Pharmacology, Therapeutics and Clinical Toxicology, the College of Physicians in Romania, Timiș branch.

Chapter III presents my professional achievements since graduating from the Faculty of Medicine in 1996. In 2000 I started my specialization in laboratory medicine, becoming a specialist in 2005. I became a primary care physician in laboratory medicine in 2018, with clinical integration within the County Hospital "Pius Brânzeu" Timișoara, in the Immunology-Biochemistry Department of the clinical medical analysis laboratory.

Chapter IV is devoted to my academic and scientific perspectives. From an academic point of view, I want to further improve myself in the field of laboratory medicine, acting simultaneously in three directions: didactic, clinical and scientific. The main objective is to continuously modernize the courses and edit teaching materials in the field, with a particular approach to practical aspects and skills. I intend to broaden the range of postgraduate courses and maintain a student-centered teaching

style that integrates interactive approaches. In addition, once I obtain the habilitation certificate, I want to coordinate doctoral studies in the field.

Scientifically, I want to continue the research directions approached so far, but also to approach new options. I intend to continue publishing scientific articles in collaboration with colleagues from the discipline, but also from other faculties or universities and to participate in the implementation and development of national and international research projects. Collaboration with others disciplines (biochemistry, morphopathology) could lead to the identification of new tumor markers that could be used in the early detection of changes at the molecular level produced by tumors, thus making possible rapid therapeutical intervention.

The final section of the habilitation thesis is dedicated to the references that served as a foundation for the elaboration of this thesis, together with the list of the main scientific publications.