

## **Raport Științific de Etapă (sintetic)**

al proiectului

### **Descifrând misterul din spatele aderenței puternice a polidopaminei: o abordare originală bazată pe introducerea de markeri izotopici locali**

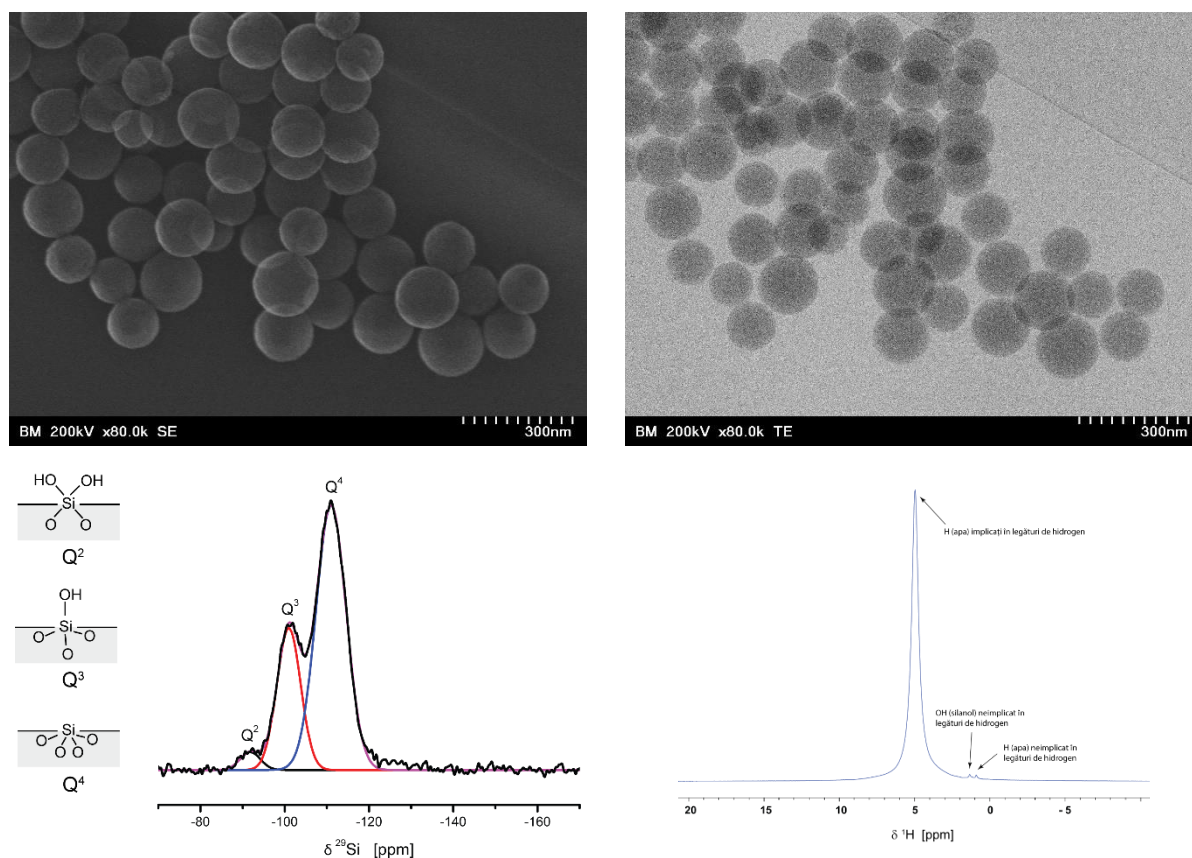
Cod proiect PN-III-P4-ID-PCE-2020-1463, Contract de Finanțare nr. PCE 201 / 23.02.2021

**Etapa 1 / 2021: Optimizarea protocoalelor experimentale de preparare a nanoparticulelor de SiO<sub>2</sub> decorate cu PDA**

Pentru îndeplinirea obiectivelor propuse, în cadrul etapei nr. 1 de implementare am desfășurat, în conformitate cu planul de lucru al proiectului, următoarele **activități**:

### A1.1 Prepararea substratelor de SiO<sub>2</sub> sub formă de nanoparticule (NP) adecvate pentru experimentele propuse

Am urmărit optimizarea unui protocol experimental de obținere de nanoparticule (NP) de SiO<sub>2</sub> cu proprietăți controlate, care să poată fi utilizate ulterior drept substrat cu dimensiuni ajustabile pentru depunerea de filme subțiri de polidopamină (PDA). Protocolul constă în metoda de sinteză a NP de SiO<sub>2</sub> cu diametrele dorite și în metode de control al calității NP obținute. Concret, am efectuat caracterizarea morfologică prin microscopie electronică SEM și TEM, urmată de analiza prin spectroscopie RMN pe solide (RMN-s) a caracteristicilor interne și de suprafață: abundența relativă a unităților structurale Q<sup>4</sup>/Q<sup>3</sup>/Q<sup>2</sup>, precum și identificarea speciilor chimice prezente la suprafața NP (grupări silanol și respectiv molecule de apă adsorbite pe suprafață). În Fig. 1 sunt ilustrate rezultatele obținute pentru NP de SiO<sub>2</sub> cu diametre grupate majoritar în jurul valorii de aproximativ 150 nm.

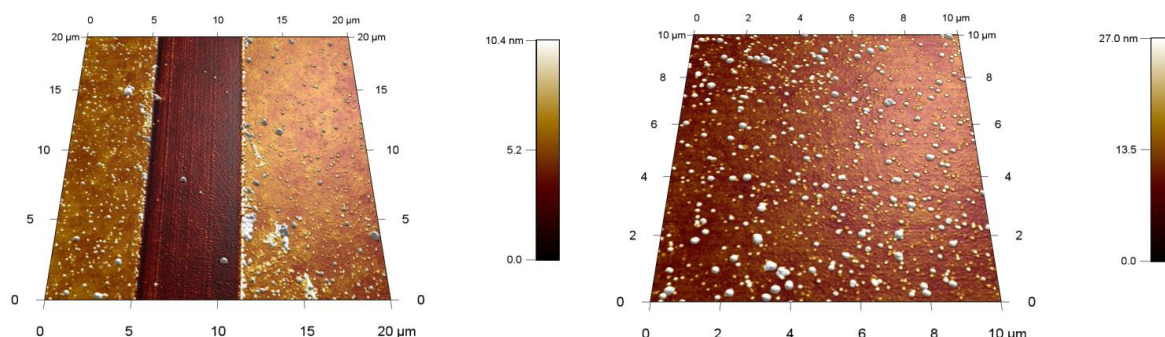


**Fig. 1** Imaginile SEM și TEM, respectiv spectrele <sup>29</sup>Si și <sup>1</sup>H RMN-s, ale NP de SiO<sub>2</sub> sintetizate – acestea confirmă dimensiunea medie de aproximativ 150 nm, abundența relativă a unităților structurale din matricea de silice Q<sup>4</sup> = 68%, Q<sup>3</sup> = 29% și Q<sup>1</sup> = 3%, precum și prezența pe suprafața NP a unui strat de molecule de apă, preponderent cuplate prin legături de hidrogen, și evidențiază grupările silanol.

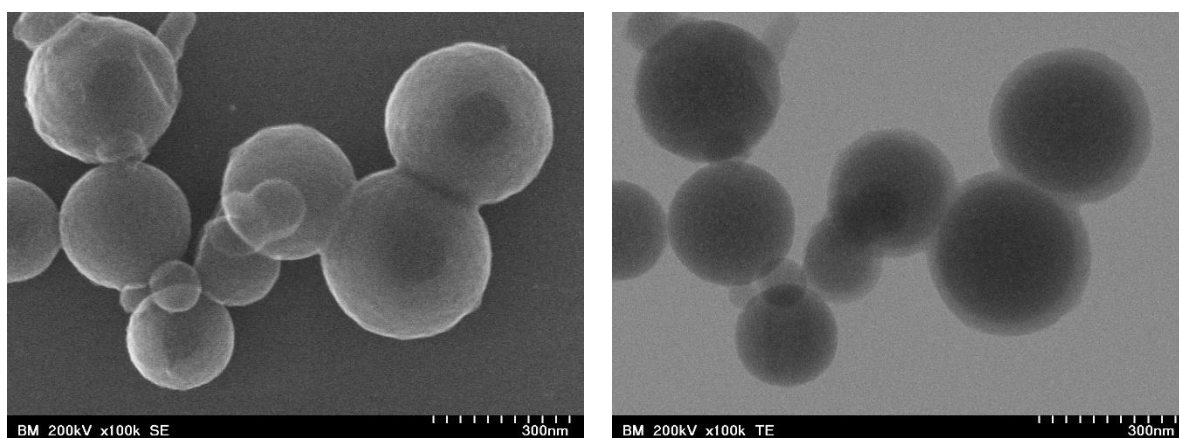
### A1.2 Optimizarea procesului de preparare a nanoparticulelor de SiO<sub>2</sub> decorate cu PDA

În cadrul acestei activități, NP de SiO<sub>2</sub> au fost utilizate cu scopul de a obține compozite de tip PDA@SiO<sub>2</sub>, optimizate în raport cu uniformitatea și grosimea stratului de PDA depus. Protocolul de lucru a constat în două etape: (i) utilizând discuri plate de sticlă drept sisteme model pentru substrat, un studiu sistematic AFM ne furnizează mai întâi caracteristicile morfologice ale stratului de PDA

depus, în funcție de condițiile de sinteză și (ii) pentru diferite condiții de sinteză selectate în urma studiului AFM, am preparat apoi compozite PDA@SiO<sub>2</sub> sub formă de nanoparticule, care au fost investigate prin microscopie electronică SEM/TEM și respectiv <sup>13</sup>C RMN-s. Exemple reprezentative pentru rezultatele obținute în cadrul acestei activități sunt redată în Fig. 2-4, mai jos.

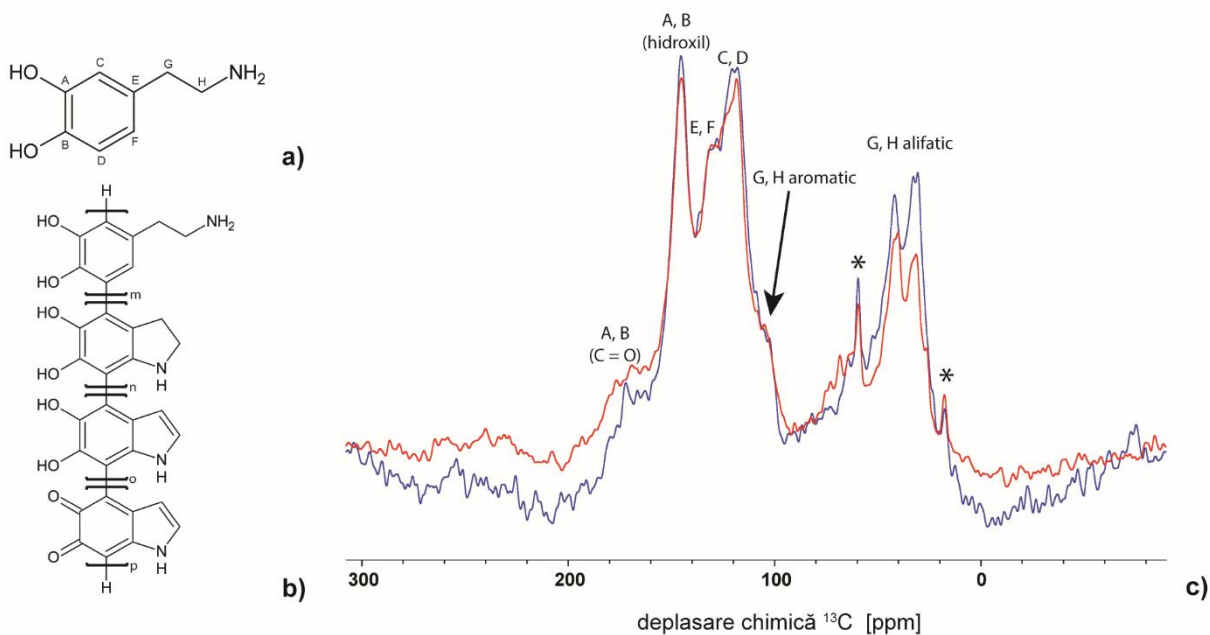


**Fig. 2** Imagini AFM ale stratului de PDA depus pe substrat de sticlă. Treapta creată prin zgâriere (stânga) a fost utilizată pentru determinarea grosimii de strat la diferite durate de depunere, iar regiunile depărtate de zgârietură (dreapta) au fost scanate pentru estimarea rugozității (am obținut grosimi medii între 5 nm și 45 nm și rugozități medii de 2-3 nm și 4-6 nm la 1 h, respectiv 6 h, durate de depunere). Se observă din ambele imagini că stratul de PDA este uniform depus, fără discontinuități. Rugozitatea este determinată în principal de agregate de PDA formate în soluția în timpul reacției de oxidare a dopaminei și care se sedimentează pe suprafața filmului quasi-plat (cu rugozitate intrinsecă de 0.5-1 nm).



**Fig. 3** Imagini SEM și TEM ale NP compozite de tip PDA@SiO<sub>2</sub> obținute la 6h timp de depunere. Stratul de PDA se observă în TEM sub forma unui halou de nuanță mai deschisă: grosimea estimată, de peste 40 nm, este în concordanță cu rezultatele AFM. De asemenea, imaginea arată că nu toate NP de SiO<sub>2</sub> sunt acoperite cu filmul de PDA. În SEM, PDA@SiO<sub>2</sub> se evidențiază printr-o suprafață mai puțin netedă în comparație cu NP de SiO<sub>2</sub>.

Studiul SEM/TEM efectuat pe compozite PDA@SiO<sub>2</sub>-1h(6h) obținute la 1 h, respectiv 6 h timp de depunere confirmă formarea unui film uniform de PDA la suprafața NP de SiO<sub>2</sub> cu grosimi în concordanță cu rezultatele AFM, dar indică și faptul că nu toate nanoparticulele sunt acoperite. În consecință, procesul de depunere de PDA pe NP de SiO<sub>2</sub> va trebui optimizat în continuare. Pentru analiza la nivel molecular a cele două tipuri de nanocompozite, spectrele <sup>13</sup>C RMN-s înregistrate (Fig. 4) confirmă formarea filmului de PDA în ambele cazuri și evidențiază diferențe de intensități relative de linii între grupările alifatică și cele aromatice. Cu toate că au fost acumulate foarte multe scanuri (275k pentru PDA@SiO<sub>2</sub>-1h și 81k pentru PDA@SiO<sub>2</sub>-6h) raportul semnal/zgomot este unul foarte scăzut, ceea ce motivează pe deplin utilizarea de probe marcate izotopic pentru studiile ulterioare.



**Fig. 4** a) Structura chimică a moleculei de dopamină; b) model structural al polidopaminei și c) spectrele  $^{13}\text{C}$  CP-MAS ale nano-compozitelor PDA@SiO<sub>2</sub>-1h(6h) obținute la o oră (albastru) și respectiv șase ore (roșu) timp de depunere. Liniile spectrale marcate cu asterisk indică prezența urmelor de etanol folosit în procesul de sinteză a NP de SiO<sub>2</sub>. Atribuirea liniilor spectrale diferitor grupări chimice confirmă formarea filmului de PDA la suprafața NP de SiO<sub>2</sub>, iar diferențele de intensități relative din zona alifatică față de liniile grupărilor aromatice în cele două cazuri indică o eficiență mai ridicată a transferului de polarizare pentru PDA@SiO<sub>2</sub>-1h, adică pentru filmul de PDA mai subțire.

### A1.3 Marcarea izotopică selectivă a dopaminei cu $^2\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ și $^{15}\text{N}$

În cadrul etapei prezente au fost obținute șase variante de marcarea izotopică selectivă a dopaminei cu  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  și  $^2\text{H}$ . În primă instanță, s-a optimizat tehnologia de laborator pentru marcarea pozițiilor chimice de carbon și de azot de pe catena laterală. În vederea obținerii de dopamină marcata în cele două poziții de interes ale catenei laterale, anume C1 și C2, s-a urmat o strategie care presupune un șir de reacții succesive. S-a pornit de la catecol, un compus comercial ușor accesibil și s-au urmat o serie de pași care au dus în final la compusul țintit: pentru marcarea la C1 schema de reacții este alcătuită din șase pași succesivi, iar pentru marcarea la C2 s-a optimizat o schema cu patru pași de reacție. Schemele de reacții pot fi aplicate pentru marcatrea simultană cu  $^{15}\text{N}$  și  $^{13}\text{C}$  a pozițiilor C1 sau C2, dar și separat, pentru carbon sau azot. În cel mai general caz vor rezulta cinci variante distincte de compuși marcați selectiv cu  $^{15}\text{N}$  și/sau  $^{13}\text{C}$  pe catena laterală (lanțul alchilic) al dopaminei. În toate cazurile, produsul final se obține sub forma sării de clor a dopaminei. Randamentul global cu care se obține produsul final este de aproximativ 78% în cazul schemei 1, și respectiv 75% pentru schema 2. Marcarea cu  $^2\text{H}$  a pozițiilor de hidrogen de pe lanțul catecholic s-a efectuat conform tehnologiei de laborator dezvoltate de către noi în cadrul Programului Nucleu.

#### **Valorificarea rezultatelor:**

(1) **Două protocoale experimentale**, fiecare alcătuit din metodă de sinteză și procedură de caracterizare a calității produsului final: primul se referă obținerea de NP de SiO<sub>2</sub> cu dimensiuni

contolabile, cel de-al doilea se referă la obținerea de nano-compozite de tip PDA@SiO<sub>2</sub> cu caracteristici ajustabile ale filmului de PDA depus. Pentru ambele au fost întocmite fișe de rezultat CDI, conform procedurii interne de raportare a rezultatelor cercetării din INCDTIM. Protocoalele optimizate vor sta la baza preparării tuturor sistemelor compozite de tip PDA@SiO<sub>2</sub> utilizate în continuare, pe parcursul derulării proiectului.

(2) Studiul AFM efectuat are și o importanță practică de sine stătătoare, astfel: (i) procedura de caracterizare morfologică a substratelor decorate cu materiale polimerice dezvoltată în cadrul prezentului proiect a fost aplicată la o tematică în colaborare cu un grup de cercetare de la UMF Cluj, iar rezultatele incluse într-un **articol trimis spre publicare** în *Electrochimica Acta*; (ii) rezultatele studiului sistematic pe substrat de sticlă acoperite cu PDA sunt în curs de sistematizare în cadrul unui alt articol științific, care va fi trimis spre publicare în următoarele luni.

(3) **Produce noi**, respectiv dopamină marcată izotopic cu: <sup>2</sup>H în pozițiile inelului cateholic, <sup>15</sup>N la poziția grupării amino și/sau cu <sup>13</sup>C în cele două poziții, C1 și C2, ale catenei laterale. În total au rezultat șase produse noi, care pot fi utilizate în etapele următoare pentru obținerea de nanocompozite PDA@SiO<sub>2</sub> acoperite cu polidopamină marcată izotopic în poziții chimice selectate.

(4) Diseminare prin intermediul a **două comunicări științifice** prezentate la *Advances in Applied Physics & Materials Science Congress – 11th APMAS-21*, Oludeniz, Turcia: “Morphological characterization of polydopamine coated surfaces” și „Solid-state NMR as a powerful tool in polydopamine characterization”.

Director Proiect,

Dr. Claudiu Filip

