



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2020 00735

(22) Data de depozit: 16/11/2020

(41) Data publicării cererii:
30/06/2021 BOPI nr. 6/2021

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
FIZICA MATERIALELOR,
STR. ATOMIȘTILOR NR. 405A,
MĂGURELE, IF, RO;
• PRO-VITAM S.R.L., STR.MUNCITORILOR,
NR.16, SFÂNTU GHEORGHE, CV, RO

(72) Inventatori:
• DINESCU MONICA,
STR.MONUMENTULUI, NR.6B, BL.2, ET.4,
AP.39, BRAGADIRU, IF, RO;
• UDRESCU ADELINA, SAT BAIJA DE FIER,
NR.215, COMUNA BAIJA DE FIER, GJ, RO;
• BAIBARAC MIHAELA,
ALEEA BARAJUL DUNĂRII, NR.1, BL.M35,
SC.5, ET.10, AP.217, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO;
• FEJER SZILARD, STR.PETOFI SANDOR,
NR.26, BL.47, AP.3, TG.SECUIESC, CV, RO

(54) **PROCEDEU CHIMIC DE ASAMBLARE A SENZORILOR
BAZAȚI PE OXID DE GRAFENĂ FUNCȚIONALIZAȚI
CU POLI(5-AMINO- 1-NAFTOL) PENTRU DETECȚIA
RECEPTORULUI FACTORULUI DE CREȘTERE EPIDERMAL**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unei platforme senzoriale pentru detecția electrochimică a receptorului factorului de creștere epidermal (EGFR) în tumorile cerebrale. Procedeu, conform invenției, constă în etapele de: interacția chimică a unui electrod serigrafat modificat cu oxid de grafenă funcționalizat electrochimic cu poli(5-amino-1-naftol) (abreviat GO-P5A1N) cu 1,4-fenilen diizotiocianat (PDITC), interacția produsului de reacție GO-P5A1N-PDITC cu proteina G, care

conduce la atașarea covalentă pe suprafața electrodului modificat și interacția electrodului modificat cu GO-P5A1N- PDITC-Proteina G cu anticorpi EGFR, din care rezultă o structură asamblată de tip platformă senzorială pentru detecția electrochimică a EGFR.

Revendicări: 2
Figuri: 5



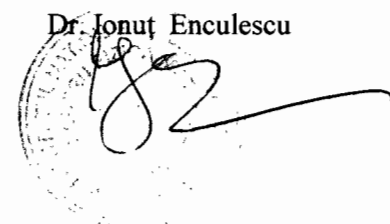
**PROCEDEU CHIMIC DE ASAMBLARE A SENZORILOR BAZAȚI PE OXID DE
GRAFENĂ FUNCȚIONALIZAȚI CU POLI(5-AMINO-1-NAFTOL) PENTRU
DETECȚIA RECEPTORULUI FACTORULUI DE CREȘTERE EPIDERMAL**

Invenția se referă la procedeul de asamblare a unei platforme senzoriale care să permită detecția electrochimică a receptorului factorului de creștere epidermal în tumorile cerebrale și care să implice nanostructuri cu preț de cost sub cel al imunosenzorilor utilizați în prezent.

Principalele platforme senzoriale pentru detecția electrochimică a receptorului factorului de creștere epidermal (abreviat EGFR) raportate până în prezent sunt bazate pe: i) nanoparticule de aur [Z. Altintas, S.S. Kallempudi, Y. Gurbuz, Gold nanoparticle modified capacitive sensor platform for multiple marker detection, *Talanta* 118, 270-276, 2014; R. Elshafey, A.C. Tavares, M. Siaj, M. Zourob, Electrochemical impedance immunosensor based on gold nanoparticles – protein G for the detection of cancer marker epidermal growth factor receptor in human plasma and brain tissue, *Biosensors and Bioelectronics* 50, 143-149, 2013]; ii) electrozi de Au modificați cu peptide [R. Li, H. Huang, L. Huang, Z. Lin, L. Guo, B. Qiu, G. Chen, Electrochemical biosensors for epidermal growth factor receptor detection with peptide ligand, *Electrochimica Acta* 109, 233-237, 2013; H. Ilkhani, M. Sarparast, A. Noori, S. Z. Bathaie, M.F. Mousavi, Electrochemical aptamer/antibody based sandwich immunosensor for the detection of EGFR, a cancer biomarker, using gold nanoparticles as a signaling probe, *Biosensors and Bioelectronic* 74, 491-497, 2015] și iii) nanocompozte de tip Fe₃O₄/N-trimetil chitosan/ nanoparticule de Au [K. Omidfar, M. Darzianiazizi, A. Ahmadi, M. Daneshpour, H. Shirazi, *Sensors and Actuators B* 220, 1311-1319, 2015].

Principalul dezavantaj al aplicării acestor procedee constau în: i) costul mare al electrozilor de aur; ii) controlul riguros al dimensiunii nanoparticulelor de aur și monodispersiei acestora, și iii) procesele de agregare/aglomerare a nanoparticulelor de aur.

În vederea înlăturării acestor dezavantaje o soluție alternativă este utilizarea electrozilor serigrafiați modificați cu oxid de grafenă care sunt funcționalizați electrochimic cu polimeri conjugați. Procedeul de funcționalizare electrochimică a electrozilor serigrafiați modificați cu oxid de grafenă în stare redusă cu polimerul conjugat poli(5-amino-1-naftol) implică generarea a noi legături covalente între cei doi compuși constituenți [M. Baibarac, M. Daescu, M. Socol, C. Bartha, C. Negrila, S. N. Fejer, Influence of reduced graphene oxide on the electropolymerization of 5-amino-1-naphthol and the interaction of 1, 4-phenylene diisothiocyanate with the poly(5-amino-1-naphthol)/reduced graphene oxide composites, *Polymers* 12, 1299, 2020]. În comparație cu electrozii de mai sus, electrozii serigrafiați modificați cu oxid de grafenă funcționalizați electrochimic cu poli(5-amino-1-naftol) prezintă o structură moleculară conform **Figurii 1**, care va prezenta un număr crescut de grupări hidroxil pe suprafața stratului de oxid de grafenă. Procesul de funcționalizare electrochimică a electrodului serigrafiat modificat cu oxid de grafenă implică polimerizarea electrochimică a 5-amino-1-naftolului în soluții apoase acide folosind ca metodă

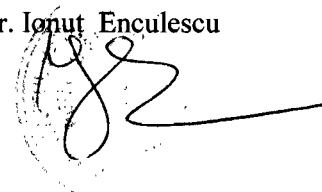
Dr. Ionuț Enculescu


voltametria ciclică. Folosirea unor parametri bine definiți precum domeniul de potențial, viteza de scanare a potențialului și numărul de cicluri conduce la obținerea unor electrozi înalt reproductibili, care prin interacții chimice succesive vor permite o asamblare conform etapelor menționate mai jos în vederea detecției electrochimice a EGFR.

În continuare se prezintă un exemplu de realizare a invenției privind asamblarea electrozilor serigrafiați modificați cu oxid de grafenă funcționalizați electrochimic cu conjugat poli(5-amino-1-naftol) (abreviat GO-P5A1N) pentru detecția electrochimică a receptorului factorului de creștere epidermal. Funcționalizarea electrozilor serigrafiați modificați cu GO-P5A1N implică polimerizarea electrochimică a 5-amino-1-naftolului având concentrația de 0.01M în prezența soluțiilor acide (exemplu acid sulfuric, acid clorhidric, etc. având concentrația 0.1M) în domeniul de potențial (0; +950) mV vs. Ag cu viteza de 50 mV/s, prin înregistrarea a 5 voltamograme ciclice cu oprirea la potențialul de +950 mV. Acest proces este succedat de o adsorbție chimică a compusului macromolecular pe suprafața electrodului care conduce la structurile moleculare prezentate în **Figura 1**. Procedeu chimic de asamblare a electrozilor serigrafiați modificați cu GO-P5A1N implică parcurgerea următoarelor etape: i) interacția chimică a electrodului serigrafiat modificat cu GO-P5A1N cu 1,4-fenilen diizotiocianat (abreviat PDITC), când rezultă produsul de reacție abreviat GO/P5A1N-PDITC (**Figura 2**); ii) electrodul serigrafiat modificat cu GO/P5A1N-PDITC va interacționa cu proteina G conducând la atașarea covalentă a proteinei G pe suprafața electrodului modificat cu GO/P5A1N-PDITC (**Figura 3**); iii) electrodul serigrafiat modificat cu GO/P5A1N-PDITC-Proteina G va interacționa cu anti-corpul EGFR conducând la o structură asamblată de tip electrod serigrafiat modificat cu GO/P5A1N-PDITC-Proteina G – anti-corp EGFR (**Figura 4**). Electrodul serigrafiat modificat cu GO/P5A1N-PDITC-Proteina G – anti-corp EGFR va reacționa chimic cu EGFR conform (**Figura 5**).

Platforma senzorială bazată pe electrozi serigrafiați modificați cu oxid de grafenă și poli(5-amino-1-naftol) conform invenției prezintă următoarele avantaje:

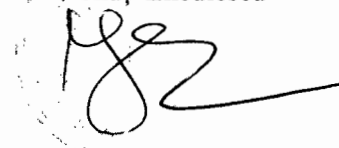
- Funcționalizat electrochimic cu P5A1N, electrodul serigrafiat modificat cu GO prezintă o reproductibilitate ridicată, straturile de oxid de grafenă fiind funcționalizate covalent atât cu grupări hidroxil cât și cu lanțurile macromoleculare ale P5A1N.
- Utilizând electrozi serigrafiați modificați cu GO-P5A1N se asigură o asamblare reproductibilă a senzorilor pentru detecția EGFR.
- Costul mai mic al unui astfel de senzor va reduce costurile aferente efectuării analizei.



**PROCEDEU CHIMIC DE ASAMBLARE A SENZORILOR BAZAȚI PE OXID DE
GRAFENĂ FUNCȚIONALIZAȚI CU POLI(5-AMINO-1-NAFTOL) PENTRU
DETECȚIA RECEPTORULUI FACTORULUI DE CREȘTERE EPIDERMAL**

RE V E N D I C Ă R I

1. Utilizarea electrozilor serigrafiați modificați cu oxid de grafenă în vederea funcționalizării electrochimice cu poli(5-amino-1-naftol) ca suportați activi alternativi nanoparticulelor de aur în vederea asamblării senzorilor pentru detecția electrochimică a receptorului factorului de creștere epidermal. Procedul electrochimic de funcționalizare a electrozilor serigrafiați modificați cu oxid de grafenă caracterizat prin aceea că implică o polimerizare chimică a 5-amino-1-naftolului în soluții apoase acide și o adsorbție chimică a compusului macromolecular pe suprafața electrodului, când sunt obținute structuri moleculare de tipul celor prezentate în **Figura 1**.
2. Procedul chimic de asamblare a senzorului bazat pe oxid de grafenă funcționalizat electrochimic cu poli(5-amino-1-naftol) (GO-P5A1N) pentru detecția electrochimică a receptorului factorului de creștere epidermal implică: i) interacția chimică a electrodului serigrafiat modificat cu GO-P5A1N cu 1,4-fenilen diizotiocianat (abreviat PDITC), când rezultă produsul de reacție abreviat GO/P5A1N-PDITC (**Figura 2**); ii) electrodul serigrafiat modificat cu GO/P5A1N-PDITC va interacționa cu proteina G conducând la atașarea covalentă a proteinei G pe suprafața electrodului modificat cu GO/P5A1N-PDITC (**Figura 3**); iii) electrodul serigrafiat modificat cu GO/P5A1N-PDITC- Proteina G va interacționa cu anti-corpii EGFR conducând la o structură asamblată de tip electrod serigrafiat modificat cu GO/P5A1N-PDITC- Proteina G – anti-corpi EGFR (**Figura 4**). Electrodul serigrafiat modificat cu GO/P5A1N-PDITC- Proteina G – anti-corpi EGFR va reacționa chimic cu EGFR conform (**Figurii 5**).



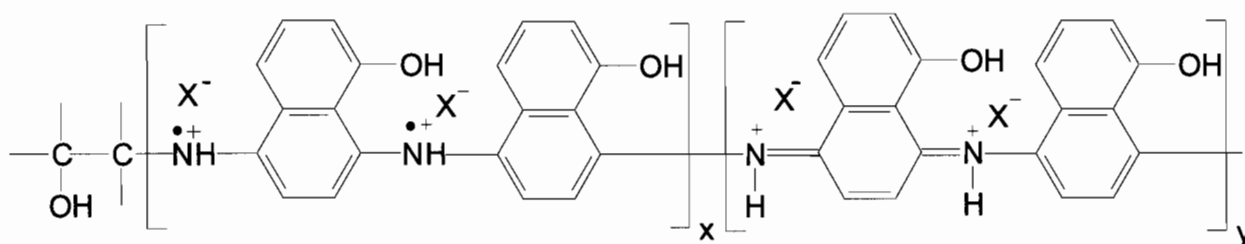


Figura 1. Structura chimică a electrodului serigrafiat modificat cu oxid de grafenă funcționalizat electrochimic cu poli(5-amino-1-naftol)

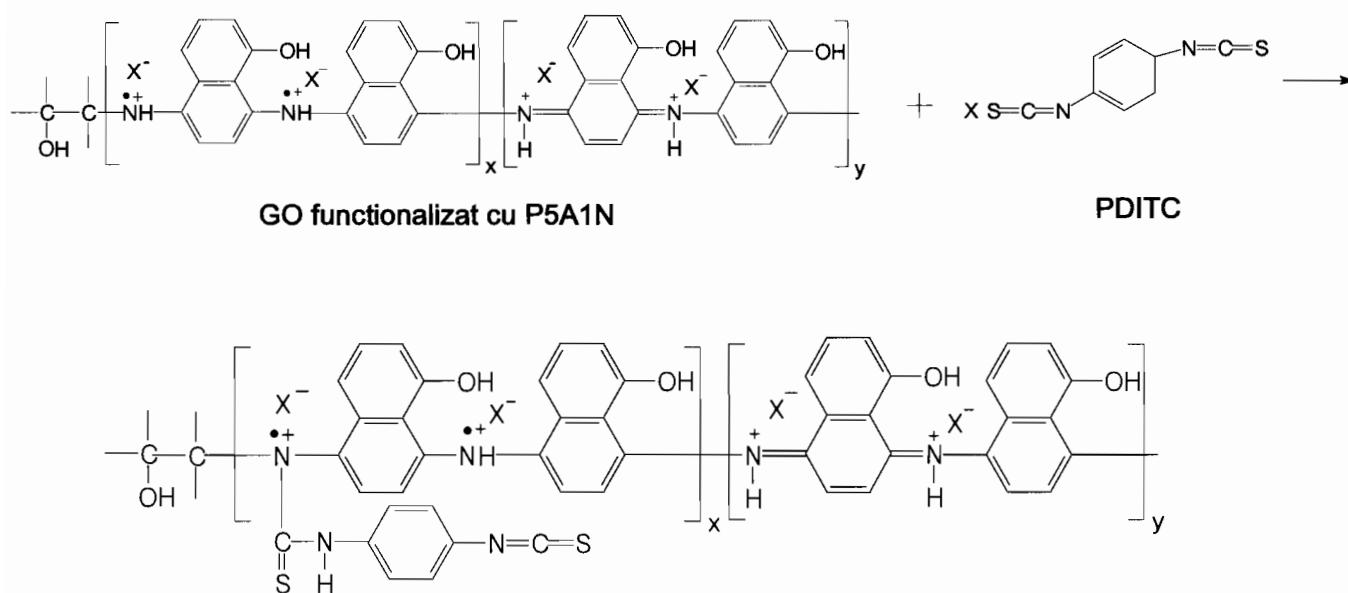


Figura 2. Interacția electrodului serigrafiat modificat cu oxid de grafenă funcționizat electrochimic cu poli(5-amino-1-naftol) cu 1,4-fenilen diizotiocianat (abreviat PDITC)

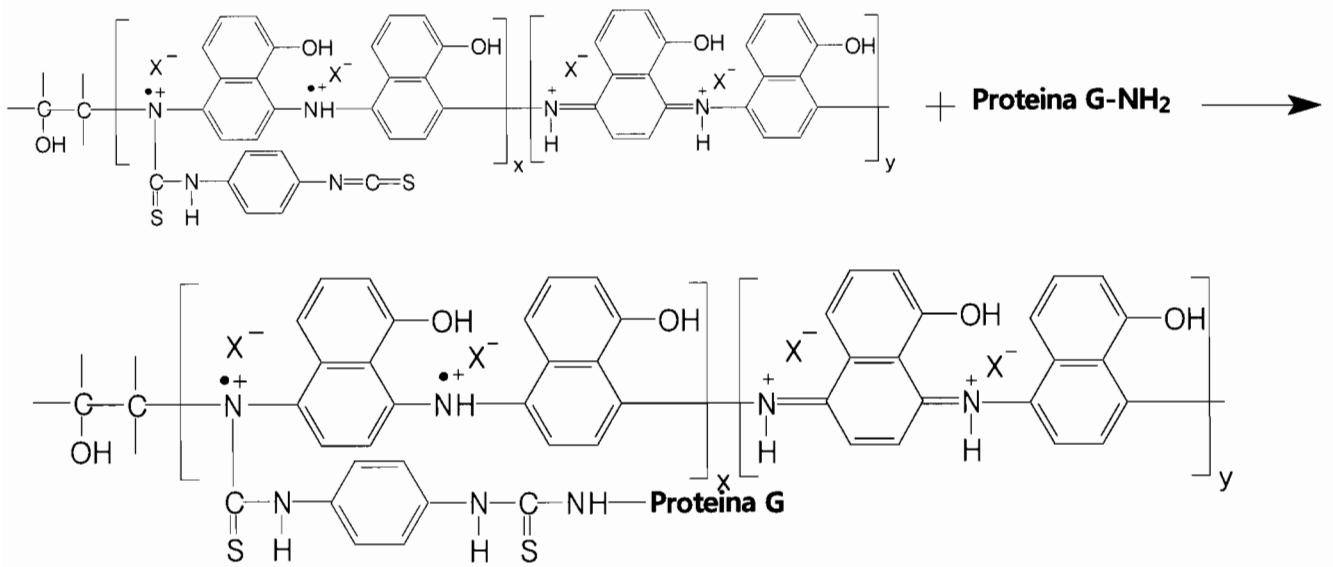


Figura 3. Interacția electrodului serigrafat modificat cu GO-P5A1N-PDITC cu proteina G

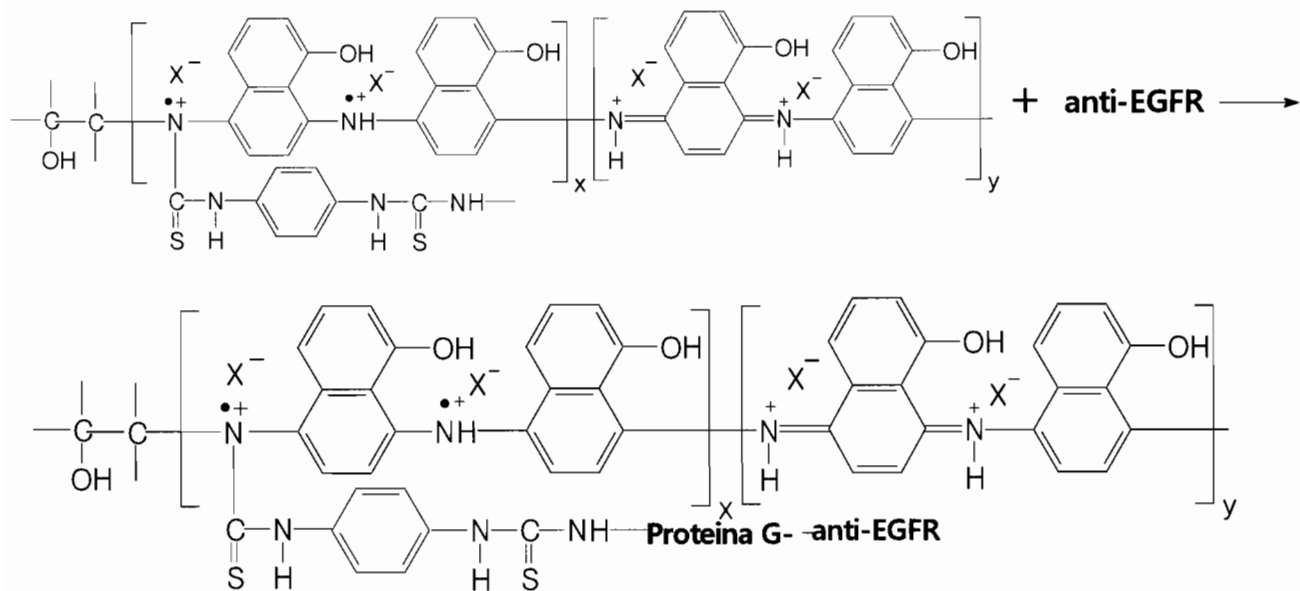


Figura 4. Interacția electrodului serigrafat modificat cu GO-P5A1N-PDITC-proteina G cu anticorpul EGFR (abreviat anti-EGFR)

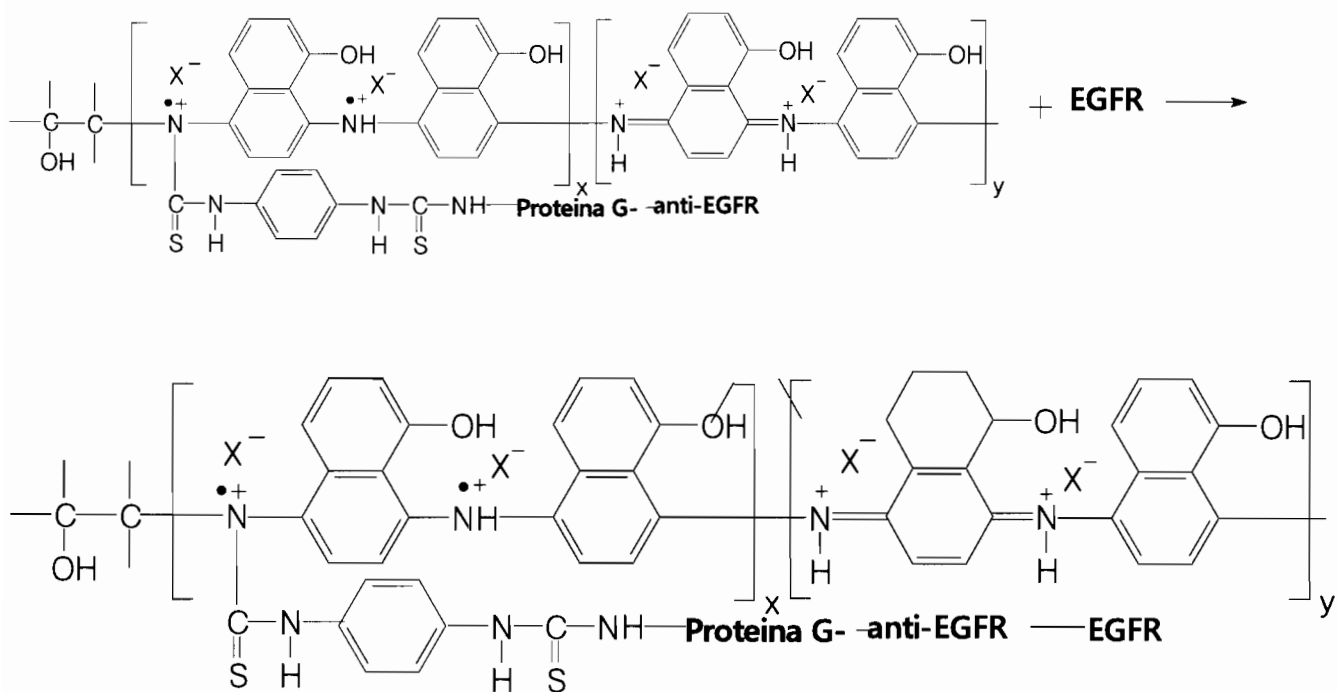


Figura 5. Interacția electrodului serigrafat modificat cu GO-P5A1N-PDITC-proteina G- anti-corpilor EGFR cu EGFR