



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2021 00028**

(22) Data de depozit: **02/02/2021**

(41) Data publicării cererii:
30/08/2022 BOPI nr. **8/2022**

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

(72) Inventatori:
• **FEJER SZILARD, STR.PETOFI SANDOR,
NR.26, BL.47, AP.3, TG.SECUIESC, CV,
RO;**
• **BAIBARAC MIHAELA,
ALEEA BARAJUL DUNĂRII, NR.1, BL.M35,
SC.5, ET.10, AP.217, SECTOR 3,
BUCUREȘTI, B, RO**

(54) **PROCEDEU CHIMIC DE ASAMBLARE A SENZORILOR
BAZAȚI PE OXID DE GRAFENĂ FUNCȚIONALIZAȚI
CU POLIDIFENILAMINĂ PENTRU DETECȚIA HORMONULUI
DE STIMULARE TIROIDIANĂ**

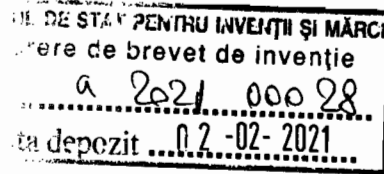
(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu chimic de asamblare a electrozilor serigrafiați pentru detecția hormonului de stimulare tiroidiană. Procedeu, conform invenției, constă în etapele: sinteza electrozilor serigrafiați modificați cu oxid de grafenă funcționalizați electrochimic cu polidifenilamină (GO/PDPA), interacția chimică cu 1,4-fenilen diizotiocianat (PDITC), din care rezultă produsul GO/PDPA/ PDITC, interacția chimică a acestuia cu proteina G care conduce la atașarea covalentă a

proteinei G pe suprafața electrodului, interacția electrodului GO/ PDPA/PDITC/G cu o soluție de anticorpii TSH și incubarea în soluția de antigen TSH, la pH 7, 4, timp de 1 h, care conduce la o structură asamblată de tip GO/PDPA/PDITC/G/anticorpi TSH/TSH.

Revendicări: 2
Figuri: 4





24

**PROCEDEU CHIMIC DE ASAMBLARE AL ELECTROZILOR BAZAȚI PE OXID DE
GRAFENĂ FUNCȚIONALIZAȚI CU POLIDIFENILAMINA PENTRU DETECȚIA
HORMONULUI DE STIMULARE TIROIDIANĂ**

Invenția se referă la asamblarea electrozilor serigrafiați pentru detecția electrochimică a hormonului de stimulare tiroidiană utilizând electrozi serigrafiați modificați cu oxid de grafenă funcționalizată cu polidifenilamină.

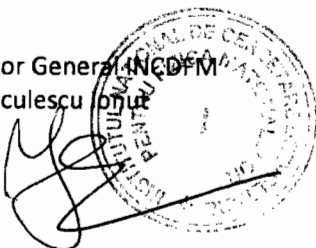
Platformele pentru detecția hormonului de stimulare tiroidiană (abreviat TSH) utilizate până în prezent au fost bazate pe:

- i) pasta de diamant modificată cu lichide ionice și inulină [R. I. Stefan -van Staden, G. Mitrofan, Fast screening of whole blood samples for early detection and monitoring of thyroid diseases, RSC. Adv. 7, 43567, 2017];
- ii) imuno-rețele din nanotuburi de carbon [M. Jovic, Y. Zhu, A. Lesch, A. Bondarenko, F. Cortes-Salazar, F. Gummy, H.H. Girault, Inkjet-printed microtiter plates for portable electrochemical immunoassays, J. Electroanalytical Chem. 786, 69, 2017];
- iii) imuno-rețele bazate pe nanoparticule de Au folosite ca nano-etichete în spectroscopia Raman exaltată prin plasmoni de suprafață [S. Choi, J. Hwang, S. Lee, D.W. Lim, H. Joo, J. Choo, Quantitative analysis of thyroid-stimulating hormone (TSH) using SERS-based lateral flow immunoassay, Sensors and Actuators B 240, 358, 2017];
- iv) imuno-rețele folosind structuri miez-coajă de tip oxid de fier - polistiren [T. Ala-Kleme, Heterogeneous time-resolved electrochemilumininoimmunoassay of thyroid stimulating hormone with magnetic beads at oxide-covered alumine electrode, Journal of Luminescence 186, 183, 2017];
- v) electrozi pastă de carbon conținând grafit, lichide ionice și nanoparticule de aur [H. Beitollahi, S. G. Ivani, M. Torkzadeh-Mahani, Application of antibody-nanogold-ionc liquid-carbon paste electrode for sensitive electrochemical immunoassay of thyroid-stimulating hormone, Biosensors and Bioelectronics 110, 97, 2018] și
- vi) microelectrozi din nanodiscuri cvasi-triunghilare din Cr/Au [D. Di, H. Wang, X. Wu, P. Dong, C. Wang, J. Wang, J. Chen, S. Li, A microelectrode biosensor with Cr/Au quasi-triangle nanodisks for thyroid-stimulating hormone detection, Int. J. Electrochem. Sci. 9, 3618, 2014].

Principalul dezavantaj al acestor platforme constau în: i) utilizarea unor materiale cu cost ridicat cum este cazul nanotuburilor de carbon; ii) prezenta unor procese de agregare/aglomerare a nanoparticulelor de aur prin stocarea în timp a; iii) necesitate unor condiții de stocare în absența luminii UV pentru a nu induce îmbătrânirea platformelor.

În vederea înlăturării acestor dezavantaje o soluție alternativă este utilizarea electrozilor serigrafiați modificați cu oxid de grafenă care sunt funcționalizați electrochimic cu polidifenilamină.

Director General INCDPM
Dr. Enculescu Ionuț



Administrator PRO-VITAM SRL
Terza Livia-Maria

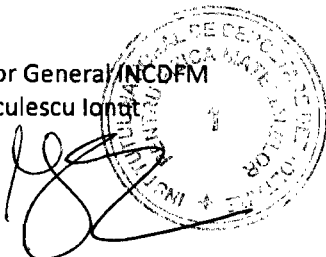
Procedeeul de funcționizare electrochimică a electrozilor serigrafiați modificați cu oxid de grafenă cu polidifenilamina implică generarea a noi legături covalente între cei doi constituenți [M. Baibarac, M. Daescu, S. N. Fejer, Adsorption of 1, 4-phenylene diisothiocyanate onto the graphene oxide sheets functionalized with polydiphenylamine in doped state, Scientific Reports 9, 11968, 2019]. În scopul de a înțelege modul de asamblare, în **Figura 1** este prezentată formula chimică a oxidului de grafenă funcționalizat cu polidifenilamină în stare dopată, când soluția de sinteză corespunde unei soluții semiapoase de difenilamină cu concentrația de $5 \times 10^{-3} \text{M}$, 10^{-3}M $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ și 1M HCl în dimetilformamidă: apă având raportul volumetric de 1:1. Procesul de funcționizare electrochimică era efectuată prin voltametrie ciclică în domeniul de potențial între $+100$ și $+900 \text{ mV}$ față de electrodul de Ag , viteza de baleiere folosită fiind de 50 mV s^{-1} . Interacția acestor platforme cu soluția de 1, 4-fenilendiizotiocianat în etanol având concentrația de 1 mg/ml a fost evidențiată recent prin spectroscopie Raman [M. Baibarac, M. Daescu, S. N. Fejer, Adsorption of 1, 4-phenylene diisothiocyanate onto the graphene oxide sheets functionalized with polydiphenylamine in doped state, Scientific Reports 9, 11968, 2019]. Interacția succesivă a acestor platforme cu proteina G, permite generarea a noi grupări amine, care permit adsorbția anticorpilor TSH și a TSH.

În continuare se prezintă un exemplu de realizare a invenției privind asamblarea electrozilor serigrafiați modificați cu oxid de grafenă funcționalizați cu polidifenilamina (abreviat GO/PDPA) pentru detecția electrochimică a TSH. Electrocul GO/PDPA interacționat cu 1, 4-fenilendiizotiocianat (abreviat GO/PDPA/PDITC în **Figura 2**) a fost incubat cu proteina G în soluția tampon fosfat cu pH egal cu 8.5 conducând la o legare covalentă a acesteia pe suprafața electrocului GO/PDPA/PDITC, compus care este abreviat GO/PDPA/PDITC/G în **Figura 3**. În aceasta etapă eliminarea proteinei G neinteracționate a fost efectuată prin interacția cu soluția de Tween în tampon fosfat având pH 8.5. Interacția platformei GO/PDPA/PDITC/G cu soluția de anticorpi TSH succedată de incubarea în soluția de antigen TSH în soluția tampon fosfat cu pH egal cu 7.4 pentru o ora a condus la obținerea platformei asamblate de tip GO/PDPA/PDITC/G/ anticorpi TSH/TSH (**Figura 4**).

Electrozi serigrafiați modificați cu oxid de grafenă și polidifenilamină conform invenției prezintă următoarele avantaje:

- Electrocul serigrafiat modificat cu GO și funcționalizat cu PDPA permite generarea a noi grupări de tip amină care vor permite legarea covalentă a 1, 4-fenilendiizotiocianat.
- Electrozi GO/PDPA/PDITC prezintă o structură moleculară care permite legarea covalentă a proteinei G permițând astfel o asamblare reproductibilă a electrozilor pentru detecția TSH.
- Costul mai mic al unui astfel de electrod va reduce costurile aferente efectuării analizei.

Director General/INCDFM
Dr. Enculescu Ionuț



Administrator PRO-VITAM SRL
Terza Livia-Maria

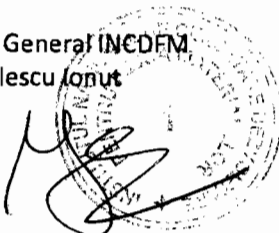


**PROCEDEU CHIMIC DE ASAMBLARE AL ELECTROZILOR BAZAȚI PE OXID DE
GRAFENĂ FUNCȚIONALIZAȚI CU POLIDIFENILAMINA PENTRU DETECȚIA
HORMONULUI DE STIMULARE TIROIDIANĂ**

REVENDICĂRI

1. Utilizarea electrozilor serigrafiați modificați cu oxid de grafenă funcționalizați electrochimic cu polidifenilamină (GO/PDPA), cu o structură moleculară conform **Figurii 1**, ca suporți activi alternativi nanoparticulelor de aur, în vederea asamblării senzorilor pentru detecția electrochimică a hormonului de stimulare tiroidiană.
2. Procedeul chimic de asamblare a electrodului GO/PDPA pentru detecția electrochimică a hormonului de stimulare tiroidiană implică: i) interacția chimică a electrodului GO/PDPA cu 1,4-fenilen diizotiocianat (abreviat PDITC), când rezultă produsul de reacție abreviat GO/PDPA/PDITC (**Figura 2**); ii) interacția chimică a electrodului GO/PDPA/PDITC cu proteina G conduce la atașarea covalentă a proteinei G pe suprafața electrodului GO/PDPA/PDITC (**Figura 3**); iii) electrodul GO/PDPA/PDITC/proteina G prin interacționarea cu anti-corpul TSH și antigenul TSH conduce la o structură asamblată de tip GO/PDPA/PDITC/Proteina G/anti-corp TSH/antigen TSH (**Figura 4**).

Director General INCDFM
Dr. Enculescu Ionuț



Administrator PRO-VITAM SRL
Terza Livia-Maria



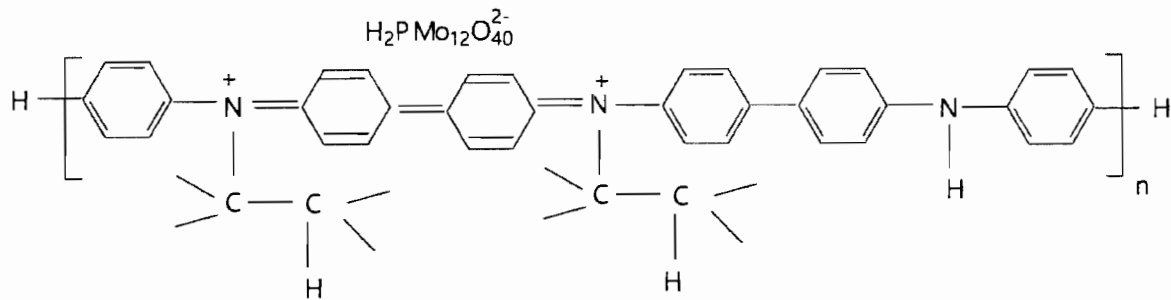
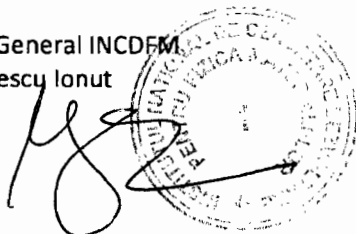


Figura 1. Structura chimică a electrodului serigrafiat modificat cu oxid de grafenă funcționalizat electrochimic cu polidifenilamină (GO/PDPA)

Director General INCDFM
Dr. Enculescu Ionut



Administrator PRO-VITAM SRL
Terza Livia-Maria

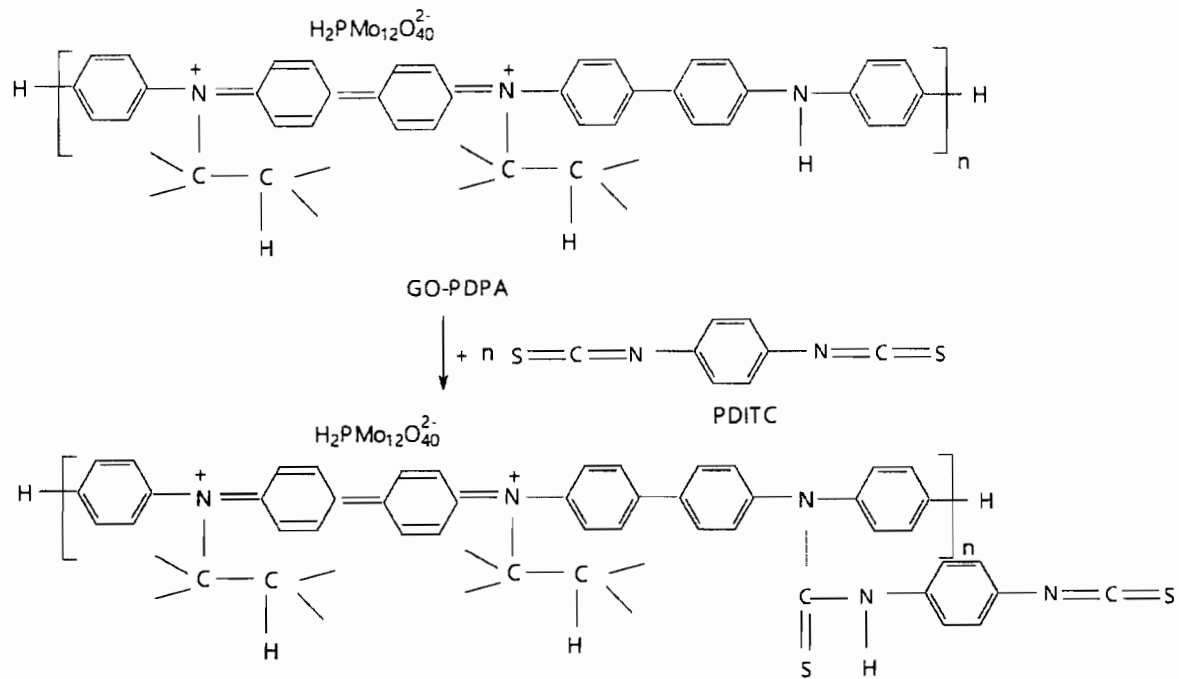


Figura 2. Interacția electrodului GO/PDPA cu 1,4-fenilen diizotiocianat (abreviat PDITC)

Director General INCDFM
Dr. Enculescu Ionut

Administrator PRO-VITAM SRL
Terza Livia-Maria

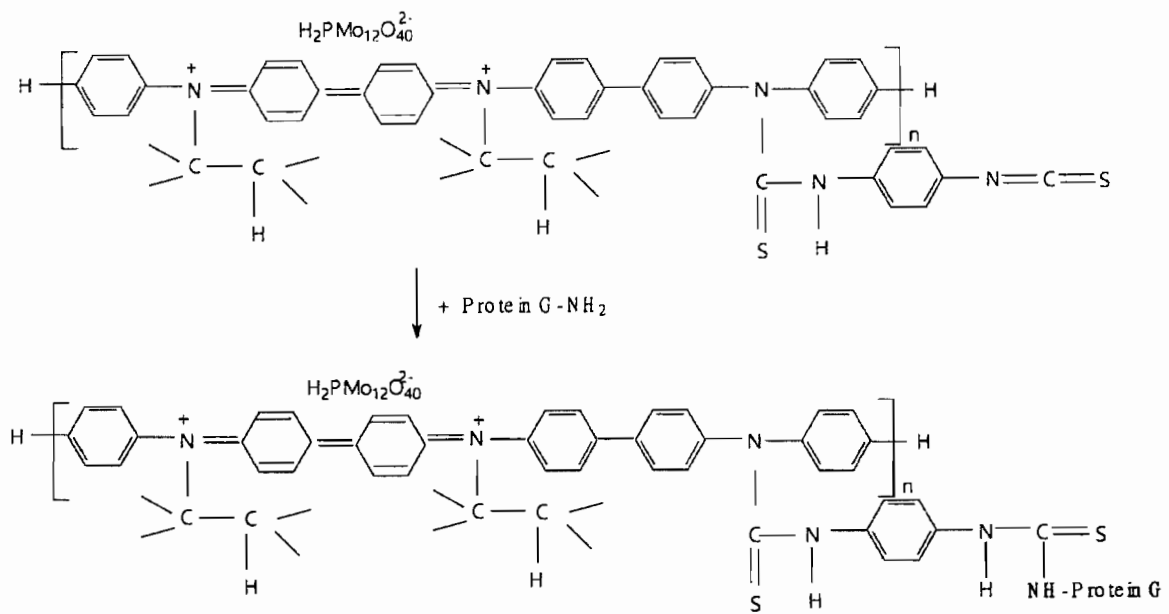


Figura 3. Interacția electrodului GO/PDPA/PDITC cu proteina G

Director General INCDFM
Dr. Enculescu Ionuț

Administrator PRO-VITAM SRL
Terza Livia-Maria

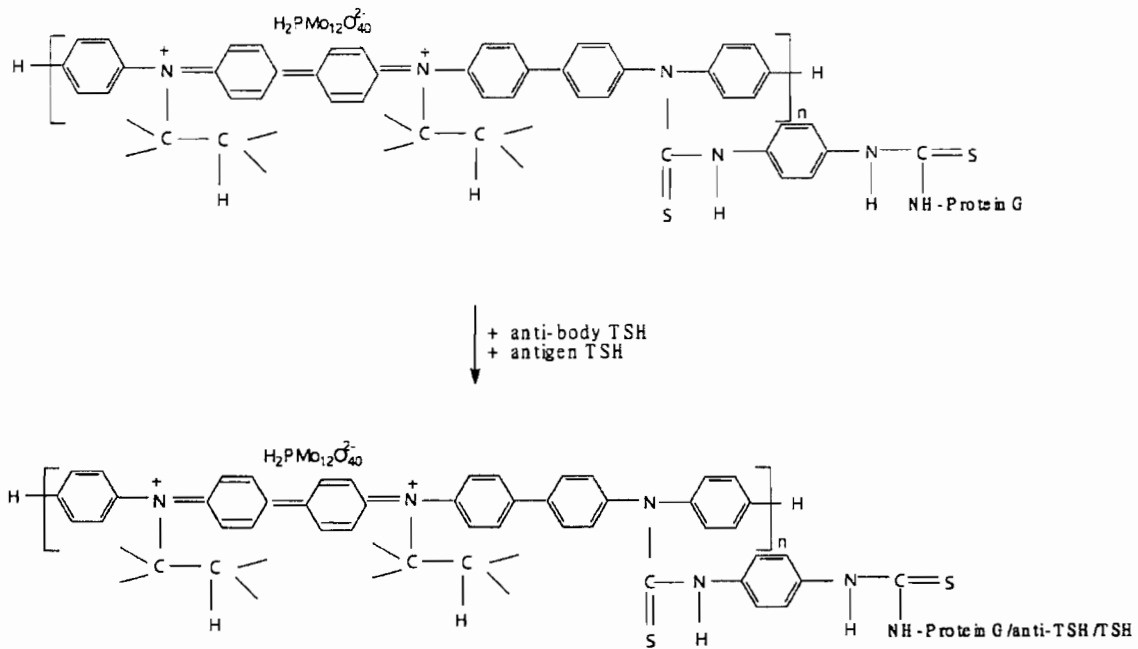


Figura 4. Interacția electrodului GO/PDPA/PDITC/proteina G cu anticorpul TSH

Director General INCDFM
Dr. Enculescu Ionut

Administrator PRO-VITAM SRL
Terza Livia-Maria