

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Timotej Strmeň

**MODIFIKACE POVRCHU MATERIÁLŮ  
POLYDOPAMINOVOU VRSTVOU**

The surface modification of materials by polydopamine layer

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Doc. RNDr. Jiří Mosinger Ph.D.

Praha 2014

Tato bakalářská práce vznikla za podpory grantu GAČR 13-124965.

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně, pod vedením školitele Doc. RNDr. Jířího Mosingera Ph.D., a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědom toho, že případné využití výsledků získaných v této práci mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity

V Praze dne 30. května 2014

## **ABSTRAKT**

Předkládaná rešeršní bakalářská práce se zabývá strukturou, vlastnostmi a možnostmi aplikace polydopaminu (PDA). Důraz je kladen na jeho využití při detekci látek, v energetice a v biomedicině. Krátká experimentální práce se zabývá porovnáním kvality depozice PDA na nanovláknenné materiály v závislosti na čase a typu použitého polymeru, na které je PDA vrstva deponována.

**Klíčové předměty:** chemie polymerů

**Klíčová slova:** polydopamin, povrch, materiál

## **ABSTRACT**

The bachelor thesis describes structure, main properties and possible applications of polydopamine (PDA). The main focus of the work lies in the description of uses of the PDA, including in detection of chemical substances, in energetics and in biomedicine. The short experimental section studies quality of deposition of the PDA depending on the deposition time and on the types of used nanofiber materials.

**Subject headings:** chemistry of polymers

**Key words:** polydopamine, surface, material

Rád bych poděkoval svému školiteli doc. RNDr. Jiřímu Mosingerovi Ph.D. a kolegovi Mgr. Petrovi Henkemu za množství cenných rad při zpracování mé bakalářské práce. Také bych rád poděkoval Dr. Lukáši Plíštilovi za dodání nanovláknenných materiálů.

## OBSAH

<b>1.</b>	<b>ÚVOD.....</b>	<b>~8~</b>
1.1.	PROBLEMATIKA MODIFIKACE POVRCHŮ MATERIÁLŮ.....	~8~
1.2.	POLYDOPAMIN: POLYMER INSPIROVÁN ADHEZIVNÍM FILMEM SLÁVKY JEDLÉ.....	~8~
<b>2.</b>	<b>MECHANIZMUS POLYMERACE A STRUKTURA PDA.....</b>	<b>~9~</b>
2.1.	PRVOTNÍ PŘEDSTAVY A POZNATKY.....	~9~
2.2.	MEZIPRODUKTY POLYMERIZACE.....	~10~
2.3.	STRUKTURA POLYDOPAMINU.....	~11~
2.3.1.	<i>Polyindolový a chinhydronový model.....</i>	<i>~11~</i>
2.3.2.	<i>Smíšený model, podrobnější analýza struktury.....</i>	<i>~12~</i>
2.3.3.	<i>FTIR spektroskopie.....</i>	<i>~13~</i>
<b>3.</b>	<b>PŘÍPRAVA POLYDOPAMINU.....</b>	<b>~14~</b>
3.1.	PŘÍMÁ PŘÍPRAVA Z DOPAMINU.....	~14~
3.2.	VLIV EXPERIMENTÁLNÍCH PODMÍNEK NA VLASTNOSTI PDA.....	~14~
3.2.1.	<i>Oxidační činidla a pH.....</i>	<i>~14~</i>
3.2.2.	<i>Koncentrace dopaminu a doba expozice.....</i>	<i>~15~</i>
3.2.3.	<i>Pufry.....</i>	<i>~15~</i>
3.3.	ALTERNATIVNÍ METODY PŘÍPRAVY PDA.....	~16~
3.3.1.	<i>Příprava enzymatickou oxidací.....</i>	<i>~16~</i>
3.3.2.	<i>Příprava elektropolymerizací.....</i>	<i>~16~</i>
<b>4.</b>	<b>FYZIKÁLNĚ – CHEMICKÉ A BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI PDA VRSTVY.....</b>	<b>~17~</b>
4.1.	OPTICKÉ A FLUORESCENČNÍ VLASTNOSTI.....	~17~
4.2.	ELEKTRICKÁ VODIVOST.....	~18~
4.3.	ZWITTERIONICITA.....	~18~
4.4.	STABILITA.....	~18~
4.4.1.	<i>Vliv teploty.....</i>	<i>~18~</i>
4.4.2.	<i>Vliv pH.....</i>	<i>~19~</i>
4.4.3.	<i>Vliv oxidačních činidel.....</i>	<i>~19~</i>
4.5.	REAKTIVITA.....	~19~
4.5.1.	<i>Reakce s aminy a thioly.....</i>	<i>~19~</i>
4.5.2.	<i>Redukční vlastnosti.....</i>	<i>~20~</i>
4.6.	IMOBILIZACE ENZYMŮ.....	~20~
4.7.	ANTIMIKROBIÁLNÍ VLASTNOSTI VZNIKAJÍCÍHO PDA.....	~21~
4.8.	TOXICITA A BIODEGRADACE.....	~21~
<b>5.</b>	<b>POKRÝVÁNÍ MATERIÁLŮ PDA VRSTVOU.....</b>	<b>~21~</b>

5.1.	ÚSPĚŠNĚ POKRYTÉ MATERIÁLY.....	~21~
5.1.1.	<i>Anorganické povrchy.....</i>	~22~
5.1.2.	<i>Organické povrchy.....</i>	~22~
5.1.3.	<i>Polymery.....</i>	~22~
5.2.	ZMĚNA VLASTNOSTÍ POKRYTÝCH MATERIÁLŮ.....	~23~
<b>6.</b>	<b>MOŽNÉ APLIKACE.....</b>	<b>~23~</b>
6.1.	Úprava vody a energetika.....	~24~
6.1.1.	<i>Čištění a příprava pitné vody.....</i>	~24~
6.1.2.	<i>Osmotické elektrárny.....</i>	~24~
6.1.3.	<i>Lithiové baterie.....</i>	~25~
6.1.4.	<i>Katalyzátory.....</i>	~25~
6.2.	DETEKCE LÁTEK.....	~26~
6.2.1.	<i>Ionty těžkých kovů a peroxid vodíku.....</i>	~26~
6.2.2.	<i>Organické látky.....</i>	~27~
6.2.3.	<i>Stanovení biomolekul.....</i>	~28~
6.3.	BIOMEDICÍNSKÉ APLIKACE.....	~28~
6.3.1.	<i>Termoterapie rakoviny a diagnostika in vivo.....</i>	~28~
6.3.2.	<i>Detekce bakterií.....</i>	~29~
6.3.3.	<i>Ochrana před bakteriemi a houbovými infekcemi.....</i>	~30~
6.3.4.	<i>Dávkování léčiv.....</i>	~30~
6.3.5.	<i>Regenerace tkání.....</i>	~31~
6.3.6.	<i>Remineralizace zubů.....</i>	~31~
6.4.	DALŠÍ VYUŽITÍ.....	~32~
6.4.1.	<i>Zlepšení separace proteinů kapilární elektroforézou.....</i>	~32~
6.4.2.	<i>Optické materiály.....</i>	~32~
6.4.3.	<i>Ochrana kovů před korozí.....</i>	~33~
<b>7.</b>	<b>CÍL PRÁCE.....</b>	<b>~34~</b>
<b>8.</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....</b>	<b>~35~</b>
8.1.	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A NANOVLÁKENNÉ MATERIÁLY.....	~35~
8.1.1.	<i>Chemikálie.....</i>	~35~
8.1.2.	<i>Nanovláknenné materiály.....</i>	~35~
8.2.	PŘÍSTROJE A METODY.....	~35~
8.3.	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	~35~
8.3.1.	<i>Snímky nanovláknenných materiálů ze skenovacího elektronového mikroskopu.....</i>	~35~
8.3.2.	<i>Vyhodnocení průměrů nanovláknenných materiálů.....</i>	~39~
<b>9</b>	<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>~42~</b>
<b>10</b>	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>~43~</b>

## SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

BIBB – 2-bromisobutyrylbromid

DA – dopamin

DHI – 5,6-dihydroxyindol

DOPA – 3,4-dihydroxy-L-fenylalanin

FTIR – „Fourier-Transform Infrared Spectroscopy“

GdDTPA – kyselina gadopentetová (komplex trojmocného gadolinia a kyseliny diethylentriaminpentaoctové)

HPLC – vysokotlaká kapalinová chromatografie („high performance liquid chromatography“)

HRP – křenová peroxidáza („horseradish peroxidase“)

LD<sub>50</sub> – latentní dávka způsobující 50% úmrtnost

Mefp – „mussel foot protein“

MWCNT – vícestěnné uhlíkové nanotrubičky („multiwalled carbon nanotubes“)

NMR – nukleární magnetická rezonance

PCL – polykaprolakton

PDA – polydopamin

PE – polyethylen

PET – polyethylentereftalát

PLCL – polymléčná kyselina ko-epsilon kaprolakton

PUR - polyuretan

PTFE – polytetrafluorethylen

PVDF – poly(vinyliden fluorid)

PVP – polyvinylpyrolindon

ROS – reaktivní kyslíkové částice

SEM – skenovací elektronový mikroskop

TRIS – tris-hydroxymethylaminomethan

# 1. ÚVOD

## 1.1 PROBLEMATIKA MODIFIKACE POVRCHŮ MATERIÁLŮ

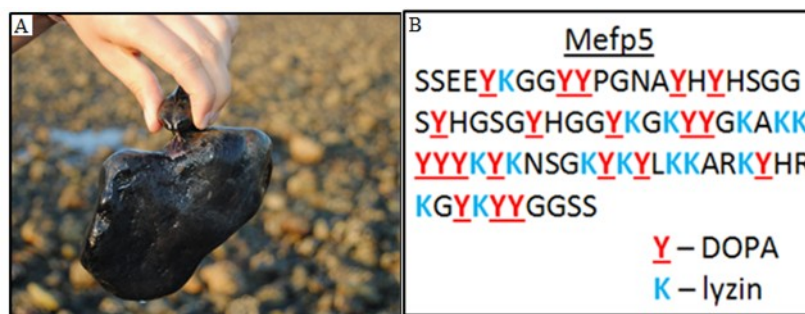
Modifikování povrchů materiálů je důležité pro mnoho oblastí vědy (chemii, biologii, inženýrství apod.)<sup>1</sup>. Používají se například na ochranu povrchů před korozi, nebo aby došlo k požadované změně vlastností materiálů<sup>2</sup>. Bylo vyvinuto mnoho metod (Langmuirovy a Langmuir – Schaeferovy metody, layer-by-layer (**LBL**) assembly, ošetřování plazmatem, fotochemické modifikace a mnoho dalších<sup>3,4,5</sup>), některé z nich jsou však nákladné a jen velmi málo metod je schopných pokrýt rozmanité povrchy ve vodném prostředí v jediném kroku<sup>6</sup>. Jednoduchost, levnost, univerzálnost a možnost kontrolovat tloušťku nanesené vrstvy jsou čtyři hlavní požadavky pro moderní modifikační postupy<sup>5</sup>.

V roce 2007 byla vyvinuta metoda, jež splňuje všechny zmíněné výhody najednou<sup>5-7</sup>. Podobně jako v případě **LBL** assembly<sup>8</sup> se jedná o techniku využívající nekovalentní interakce, avšak pro pokrytí se používá jediná látka, polydopamin<sup>9</sup>. Díky svým přednostem se rychle stala předmětem intenzivního výzkumu. Tato práce se bude zabývat vlastnostmi a aplikacemi polydopaminu se zaměřením na jeho využití na nanovláknenných materiálech.

## 1.2 POLYDOPAMIN: POLYMER INSPIROVÁN ADHEZIVNÍM FILMEM SLÁVKY JEDLÉ

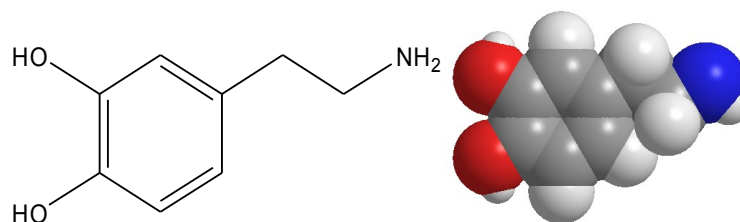
Při hledání nových způsobů pokrývání materiálů se obrátila pozornost na slávky, protože se dokáží silně přichytit na libovolné povrchy ve vodě (viz obr. 1.1)<sup>10</sup>. Názorným příkladem toho je jejich schopnost adheze na polytetrafluorethylen (**PTFE**), který většině pokusů o pokrytí jinými materiály odolává<sup>7,10</sup>. Slávky vytváří vlákna obsahující adhezivní plak, jež se skládá ze sedmi až osmi proteinů. V místě kontaktu plaku s povrchem se nachází tzv. „mussel foot“ proteiny (**Mefp**) odpovědné za adhezi<sup>7</sup>. Z nich proteiny označené jako **Mefp3** a **Mefp5** (viz obr. 1.1) obsahují převážně lyzin a 3,4-dihydroxy-L-fenylalanin (**DOPA**)<sup>11</sup>. Proto se začalo předpokládat, že za dosažení tak silné a efektivní adheze jsou odpovědné aminoskupiny lyzinu a hlavně katecholové skupiny **DOPA**. Molekuly, jež obsahují současně katecholové skupiny a aminoskupiny, se nazývají katecholaminy. Mezi katecholaminy patří například dopamin<sup>7</sup>.





**Obr. 1.1:** Slávka přilepená na kameni (A)<sup>10</sup>, primární struktura **Mefp5** proteinu odpovědného za adhezi (B)<sup>7</sup>

Dopamin (**DA**), je především známý jako hormon a neurotransmiter<sup>12,13</sup>. Je to jednoduchá organická molekula (viz obr. 1.2), která má za určitých podmínek schopnost polymerovat a pokrýt jakýkoliv povrch bez ohledu na jeho chemickou podstatu. Díky tomu si tento polymer, polydopamin (**PDA**), vysloužil velkou pozornost. To vedlo k jeho intenzivnímu zkoumání a následně pokusům zjistit jeho strukturu<sup>14</sup>.



**Obr. 1.2:** Vzorec dopaminu.<sup>7</sup>

## 2 MECHANIZMUS POLYMERACE A STRUKTURA PDA

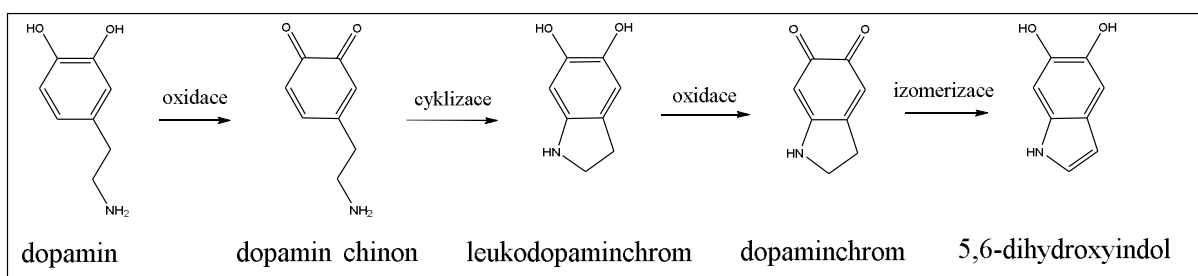
### 2.1 PRVOTNÍ PŘEDSTAVY A POZNATKY

Přestože polymerace **DA** je známá delší čas, mechanismus vzniku a struktura polymeru nejsou uspokojivě vysvětleny. První hypotéza byla založena na analogii s polymerací přírodního eumelaninu, jelikož vzniká z derivátů tyrozinu patřící mezi katecholaminy. Později se na základě **NMR** analýzy zjistila přítomnost výhradně nasycených indolinových kruhů. Začalo se předpokládat, že dochází pouze k oxidaci **DA** a vázání monomerů nekovalentními vazbami<sup>14</sup>.

V dalším výzkumu se analýzou polymeru pomocí **HPLC** v kombinaci s hmotnostním spektrometrem odhalila přítomnost velkého množství nezreagovaného **DA**. Byl nalezen ve formě komplexu se svou oxidovanou formou, 5,6-dihydroxyindolem. Na vrstvě **PDA** došlo k jeho enkapsulaci s následným minimálním uvolňováním. Tím byly vysvětleny pozorované nekovalentní interakce v polymeru. Důkazem kovalentních vazeb v polymeru se získala přibližná představa o procesu vzniku **PDA**<sup>14</sup>.

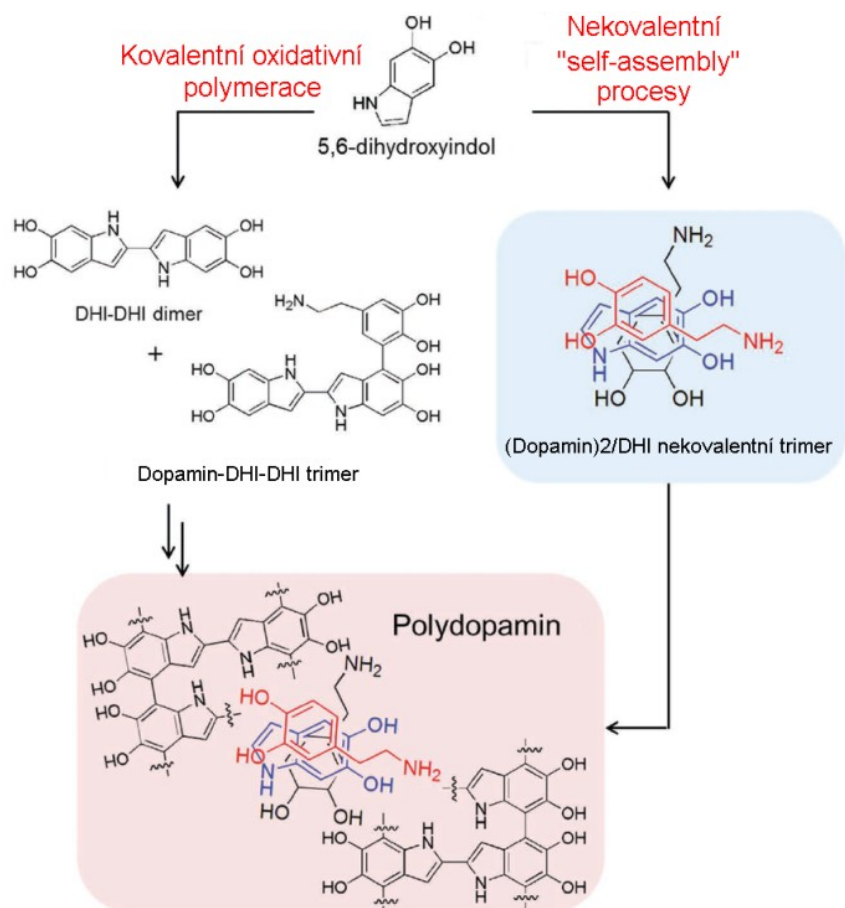
## 2.2 MEZIPRODUKTY POLYMERACE

Celý proces polymerace začíná oxidací dopaminu na 5,6-dihydroxyindol (**DHI**) přes několik meziproductů (viz obr. 2.1)<sup>5,15</sup>.



**Obr. 2.1:** Vznik 5,6-dihydroxyindolu z dopaminu<sup>15</sup>.

Následně dochází ke dvěma konkurenčním reakcím. První je kovalentní polymerizace a tvorba oligomerů. Druhá je nekovalentní vazba nezreagovaného **DA** na jeho oxidovanou formu a vznik trimerů. Produkty reakcí vytváří nekovalentní interakce za vzniku výsledného polymeru (viz obr. 2.2)<sup>14,31</sup>.

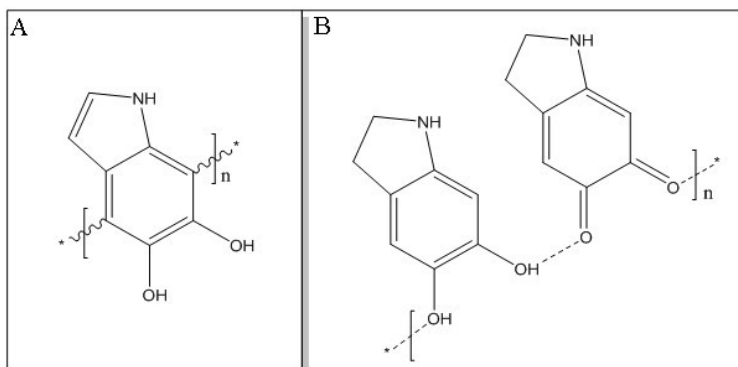


**Obr. 2.2:** Proces polymerace po vzniku 5,6-dihydroxyindolu<sup>18</sup>.

## 2.3 STRUKTURA POLYDOPAMINU

### 2.3.1 POLYINDOLOVÝ A CHINHYDRONOVÝ MODEL PDA

Dříve se předpokládalo, že **PDA** je složen z jednotek **DHI** spojených kovalentně přes volné uhlíky benzenového jádra. Později se v polymeru zjistila přítomnost vodíkových můstků a donor-akceptorových interakcí. Proto se začalo předpokládat, že **PDA** je tvořen monomery, které jsou vázány pomocí interakcí katecholové a chinonové skupiny (střídavě jsou tedy vázány redukováná a oxidovaná forma molekuly, viz obr. 2.3)<sup>16</sup>.

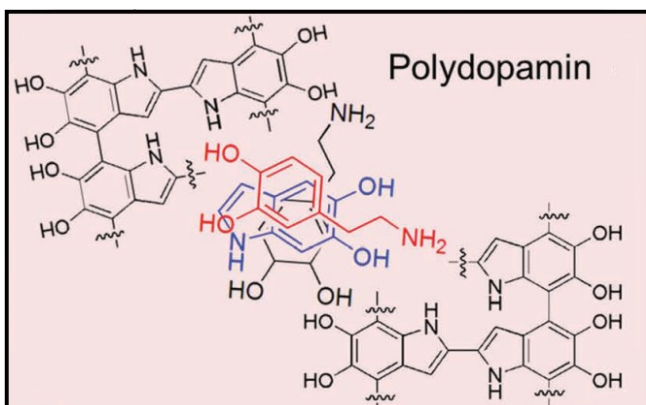


**Obr. 2.3:** Polyindolový model (A) a chinhydronový model PDA (B) <sup>16,31</sup>

### 2.3.2 SMÍŠENÝ MODEL, PODROBNĚJŠÍ ANALÝZA STRUKTURY

V dalším výzkumu se prokázala přítomnost vazby mezi benzenovými jádry dopaminu, ale potvrdily se i vodíkové můstky a donor-akceptorová interakce<sup>31</sup>. V přítomnosti neiontového polymeru polyvinylpyrolidonu (**PVP**) byl vznik **PDA** potlačen, což poukazuje na přítomnost nekovalentních vazeb, včetně  $\pi$ - $\pi$  interakcí. **PVP** pravděpodobně vytváří vodíkové můstky s **DHI**, čímž brání nekovalentnímu spojení složek polymeru. Je to první známá látka inhibující vznik **PDA**<sup>17</sup>.

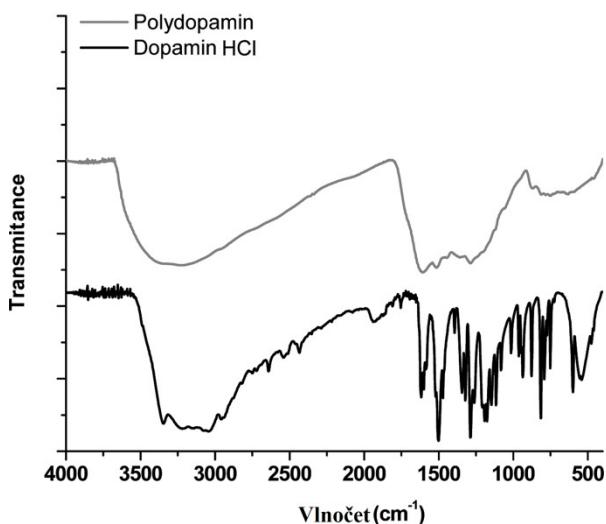
Nejnovější teorie se začaly opírat o strukturu přírodního eumelaninu. Předpokládají vznik oligomerů (tetramerů a oktamerů kovalentně spojených přes benzenová jádra), které jsou vázány pomocí donor-akceptorových interakcí a vodíkových můstků mezi katecholovými a chinonovými skupinami. V polymeru je přítomen jak nenasycený indolový, tak nasycený indolinový kruh a byly prokázány i volné řetězce zakončené aminoskupinou<sup>31</sup>. V polymeru se také nachází nezreagovaný **DA** (až 14,2% (w/w)) v komplexu s **DHI** (viz obr. 2.4)<sup>18</sup>. Některé zdroje uvádí vznik vrstev podobných grafitu držících **PDA** pohromadě nekovalentními vazbami<sup>19</sup>. Pro podrobnější informace se porovnály infračervené spektra **DA** a **PDA** (2.3.3)



**Obr. 2.4:** Zjednodušený model struktury PDA zohledňující přítomnost kovalentních i nekovalentních vazeb<sup>18</sup>.

### 2.3.3 FTIR SPEKTROSKOPIE

FTIR spektroskopie („Fourier Transform infrared spectroscopy“) byla použita na analýzu PDA (viz obr. 2.5)<sup>13</sup>.



**Obr. 2.5:** Porovnání FT infračerveného spektra dopaminu a PDA<sup>16</sup>.

Široký pás v oblasti 3200 až 3500 cm<sup>-1</sup> u PDA patří vazbám hydroxylů, aminů a vodě. Píky 1515 a 1605 cm<sup>-1</sup> odpovídají indolovým a indolinovým strukturám. Předpokládané karbonylové skupiny zde nejsou vidět, protože jsou zřejmě skryty v široké oblasti píku mezi 800 – 1700 cm<sup>-1</sup> (cit. <sup>13,16</sup>).

## 3 PŘÍPRAVA POLYDOPAMINU

### 3.1 PŘÍMÁ PŘÍPRAVA Z DOPAMINU

První **PDA** film byl připraven ve vodném roztoku při podmínkách podobných mořské vodě, jenž jsou charakteristické pro adhezi slávek na pobřežní povrchy<sup>7</sup>. Při koncentraci dopaminu 2 mg/ml a pH 8,5 ustáleného 10 milimolárním Tris-(hydroxymethyl) aminomethanem (**TRIS**) došlo k okamžité spontánní polymeraci<sup>7</sup>, přičemž tyto podmínky jsou do dnešní doby nejčastěji používány<sup>20,21,22,23,24,25,26</sup>. Polymerace začíná téměř okamžitě a **PDA** pokryje tmavou vrstvou všechny povrchy, které se v roztoku nachází<sup>11</sup>. Materiály s **PDA** vrstvou jsou následně omyty vodou, aby byl odstraněn slabě vázaný polymer<sup>26</sup>.

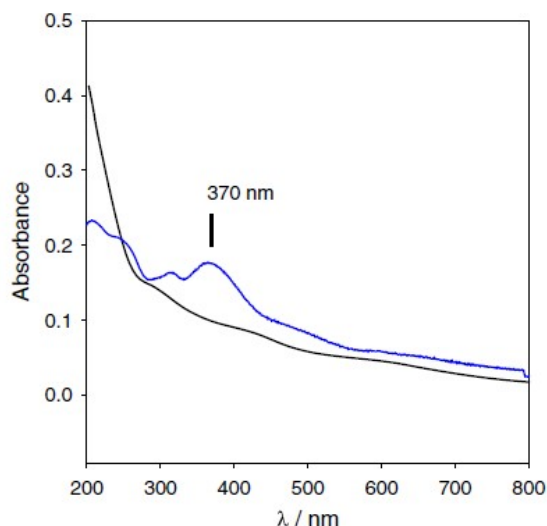
### 3.2 VLIV EXPERIMENTÁLNÍCH PODMÍNEK NA VZNIK A VLASTNOSTI PDA

Experimentální podmínky uvedeny výše jsou pro vznik **PDA** nejvíce používány. Následující kapitoly se budou zabývat jejich variacemi.

#### 3.2.1 OXIDAČNÍ ČINIDLA A pH

Na iniciování oxidativní polymerace **DA** je nutná přítomnost oxidačního činidla. Pro tento účel se do roztoku žádné přidávat nemusí, protože při pH mezi 8,0<sup>27</sup> a 9,0<sup>28</sup> postačuje kyslík rozpuštěný ve vodě<sup>12</sup>. Ten se ale není schopen redukovat v kyselém prostředí. Přídavkem silnějšího oxidačního činidla (například jodistanu sodného) je však umožněno vzniku polymeru i v kyselém (pH 4) a neutrálním (pH 7) prostředí. Tím je umožněno pokrytí materiálů náchylných na bazické prostředí, jako je hliník, celulóza, či nylon<sup>29</sup>. Oxidační činidlo přidané do **DA** v alkalickém prostředí navíc zvýší stabilitu vzniklého **PDA**.<sup>20</sup>

Kyslík se dá také nahradit jinými oxidačními činidly, například měďnatými ionty. V prostředí měďnatých iontů byla pozorována tvorba **PDA** při pH 4,5 a kinetika růstu jeho vrstvy v čase měla lineární průběh. Při použití kyslíku má tato funkce logaritmický charakter a dosahuje maximální tloušťku kolem 45 nm. Inkorporace měďnatých kationtů do **PDA** je malá (1 – 2%), stačí to však na změnu průběhu absorpčního spektra **PDA** (viz obr. 3.1)<sup>5</sup>.



**Obr. 3.1:** Absorpční spektrum **PDA** ve viditelné a blízké UV oblasti spektra při použití 2 mg/mL **DA**. Černé spektrum patří **PDA**, při kterém se použil kyslík jako oxidační činidlo. Modré spektrum patří **PDA** vzniklého v roztoku zbaveného kyslíku s použitím  $\text{Cu}^{2+}$  jako oxidačního činidla. Vertikální černá čára představuje polohu piku při 370 nm<sup>30</sup>.

### 3.2.2 KONCENTRACE DOPAMINU A DOBA DEPOZICE

Při podmínkách používaných u většiny pokusů (počáteční koncentrace **DA** 2 mg/ml, pH 8,5; doba depozice 24 hodin) je dosažena tloušťka vrstvy polymeru kolem 40 – 45 nm. Při použití vyšší iniciační koncentrace dopaminu (5 mg/ml) se získá vrstva přibližně dvounásobné tloušťky ve stejném čase. Růst filmu má však zřejmě svůj limit v důsledku omezené rozpustnosti kyslíku ve vodě sloužícího jako oxidační činidlo. Při koncentraci 0,1 g/l **DA** polymer téměř nevzniká<sup>6</sup>.

### 3.2.3 PUFRY

Nejčastěji je pro přípravu **PDA** používán **TRIS** pufr o koncentraci 10 mmol/l, byl však použit i o koncentraci vyšší (50 mmol/l)<sup>2</sup>. Pomocí **NMR** spektroskopie byla prokázána inkorporace molekul pufru do struktury polydopaminu, přičemž při použití fosfátového a hydrogenuhličitanového pufru k tomu nedochází. Při nižších koncentracích **DA** je inkorporace mnohem intenzivnější<sup>14</sup>.

K polymeraci **PDA** je možné použít i 0,1M fosfátový pufr<sup>21</sup>. Polymerace v prostředí fosfátového pufru je však pomalejší než v prostředí **TRIS** a výtěžek nerozpustného **PDA** je

menší. K danému jevu dochází v důsledku vzniku rozdílných rozpustných prekurzorů **PDA**. Ukazuje se však, že výsledný polymer má v obou případech stejné složení<sup>31</sup>.

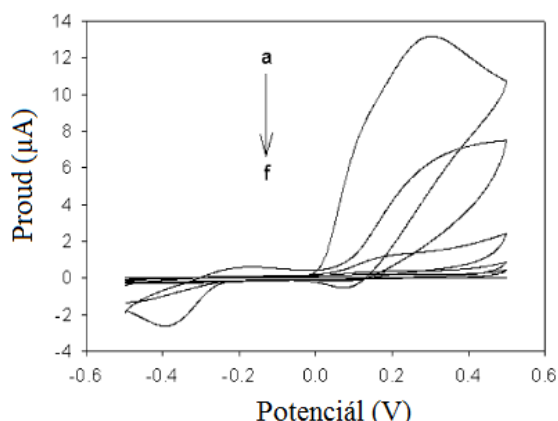
### 3.3 ALTERNATIVNÍ METODY PŘÍPRAVY PDA

#### 3.3.1 PŘÍPRAVA ENZYMATICKOU OXIDACÍ

Pro vznik **PDA** je možné místo kyslíku použít enzym lakázu. Lakáza je enzym oxidující polyfenoly a využívá se k oxidaci fenolů v odpadních vodách. Na rozdíl od kyslíku je schopna oxidovat **DA** již při pH 6. Při polymeraci je enzym enkapsulován do vrstvy **PDA**, která následně také vykazuje jeho enzymatickou aktivitu<sup>14</sup>.

#### 3.3.2 PŘÍPRAVA ELEKTROPOLYMERIZACÍ

Polydopaminovou vrstvu je možné připravit přímo z **DA** elektropolymerizací na pracovní elektrodě<sup>2</sup>. Oxidace dopaminu je prováděna v roztoku zbaveného kyslíku cyklickou voltametrií. Pro experimentální účely byl jako elektrolyt použit roztok **DA** s pufrům (fosfátovým nebo **TRIS**), jenž měl pH 7,4 – 7,5. Do roztoku byl vkládán potenciál v rozmezí -0,5 až 0,5 voltů oproti referenční elektrodě. Výsledkem několika desítek cyklů je rigidní a izolační vrstva **PDA**, jenž pokryje pracovní elektrodu a znemožní tím přenos elektronů na povrch této elektrody. Projeví se to vymizením faradaického proudu v cyklickém voltamogramu (viz obr. 3.2)<sup>2,32</sup>



**Obr. 3.2:** *Cyklické voltamogramy odpovídající elektropolymerizaci **DA** o koncentraci 5 mmol/l po **a** jednom cyklu **b** třech cyklech **c** pěti cyklech **d** deseti cyklech **e** dvaceti cyklech a **f** třiceti cyklech.*<sup>32</sup>



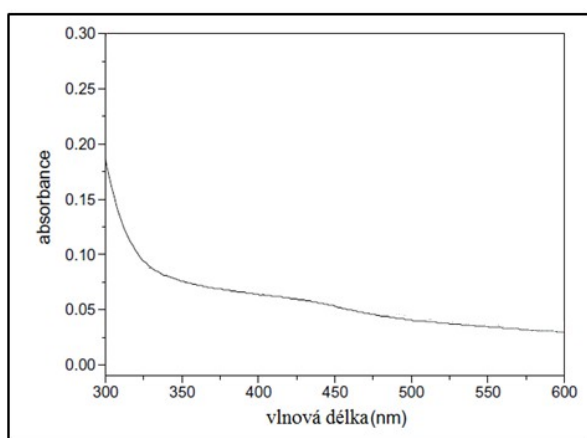
Výhodou elektropolymerizace je dosažení hrubší a odolnější vrstvy **PDA** než při stejné iniciační koncentraci **DA** a použití kyslíku jako oxidačního činidla. Hlavní nevýhodou je možnost pokrýt pouze elektricky vodivé materiály<sup>2,14</sup>.

## 4 FYZIKÁLNĚ – CHEMICKÉ A BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI PDA VRSTVY

Vlastnosti **PDA** jsou prozkoumané jen zčásti. Přitom je nutné poznamenat, že při rozdílných podmínkách přípravy je z **DA** možné získat chemicky a strukturně jiné látky, které se vlastnostmi mohou částečně lišit<sup>29</sup>.

### 4.1 ABSORPČNÍ A FLUORESCENČNÍ VLASTNOSTI

Podobně jako v přírodě se vyskytující pigment eumelanin, má **PDA** plynule klesající absorpční spektrum z UV do blízké IČ oblasti (viz obr. 4.1)<sup>33</sup>. Protože eumelanin silně absorbuje v UV oblasti, má schopnost chránit živé organismy před škodlivými účinky UV záření. Analogicky se pro **PDA** předpokládají stejné UV ochranné vlastnosti<sup>29</sup>.



**Obr. 4.1:** UV-Vis absorpční spektrum **PDA** připraveného na podložních sklíčkách v roztoku dopaminu (koncentrace **DA** 2 mg/ml v 10 mM **TRIS** pufru při pH 8,5) při laboratorní teplotě<sup>33</sup>.

Další vlastnost, kterou mají eumelanin a **PDA** stejnou, je jejich fluorescence. Oba polymery vykazují pod UV zářením slabou fluorescenci s emisním pásem v oblasti 400 – 550 nm<sup>14</sup>.

## 4.2 ELEKTRICKÁ VODIVOST

Elektrické vlastnosti jako vodivost se pro **PDA** předpokládají stejné, jako má přírodní melanin. Konduktivita **PDA** silně závisí na okolních podmínkách. Ve vakuu má velmi nízkou konduktivitu, kolem  $10^{-13}$  S.m<sup>-1</sup> (cit. <sup>14</sup>). Vodivost **PDA** vzroste při 100% relativní vlhkosti prostředí na  $10^{-5}$  S.m<sup>-1</sup> díky plné hydrataci **PDA** vrstvy<sup>14,34</sup>. Mechanismus vodivosti v dehydratovaném ani hydratovaném stavu není doposud známý. Kromě vlhkosti je vodivost také závislá na teplotě<sup>34</sup>.

## 4.3 ZWITTERIONICITA

Polydopaminová vrstva vykazuje zwitterionicitu. Když je pH menší než kolem čtyř, vrstva je nabitá záporně a dobře do ní pronikají malé, kladně nabitě molekuly. Když je pH větší než je isoelektrický bod polymeru, do vrstvy pronikají záporně nabitě molekuly<sup>6,35</sup>. Jedná se o reverzibilní proces, lze tedy neomezeně měnit pH a tím selektivitu **PDA**<sup>35</sup>. Tato vlastnost by se mohla využít při dávkování léčiv (7.4)<sup>11</sup>.

## 4.4 STABILITA

Mezi polymerem a povrchem (anorganickým, organickým, či polymerním) dochází ke vzniku silných mezimolekulových interakcí, kterými se **PDA** pevně váže na povrch substrátu<sup>9</sup>. **PDA** je nerozpustný ve vodě a všech běžných organických rozpouštědlech<sup>13</sup>, dobře se však rozpouští v silně alkalických roztocích<sup>30</sup>.

### 4.4.1 VLIV TEPLoty

Při zvyšování teploty se nejprve začne z **PDA** vrstvy vypařovat voda, přičemž k výraznému vypařování dochází při teplotě vyšší než 71 °C a nad 120 °C dojde k její úplnému vypaření. Jde o endotermní proces, při kterém se vrstvy **PDA** patrně přeorientují do stabilnějších poloh<sup>19</sup>.

Při teplotě 73 °C se začne exotermicky uvolňovat oxid uhličitý. Nad 70 °C se také začne snižovat počet volných aminoskupin a ethylenových můstků ve stejném poměru, což značí intramolekulární cyklizaci aminoethylenových zbytků. Nad teplotou 110 °C byl pozorován pokles počtu aminoskupin a ethylenových můstků, ale v případě ethylenového

můstku byl pokles větší. To bylo vysvětleno částečným zesílením vrstev podobných grafitu v **PDA**. Zároveň se zpočátku amorfni a různorodý **PDA** změnil na více uspořádaný systém. Zahřátím **PDA** se zvýší jeho stabilita<sup>19</sup>.

#### 4.4.2 VLIV pH

Čerstvě připravená **PDA** vrstva je nestabilní v silně kyselém a alkalickém prostředí. Jak již bylo zmíněno, polymer se nabíjí podle pH. Když se elektrostatické repulze stanou silnějšími než nekovalentní vazby, kterými drží polymer pohromadě, **PDA** se začne rozpadat. V prostředí 0,1 molární kyseliny chlorovodíkové je přitom **PDA** více stabilní než v prostředí 0,1 molárního hydroxidu sodného. Vysvětlení vychází ze struktury polymeru. Každá „monomerní“ jednotka obsahuje jednu aminoskupinu a proto v kyselém prostředí nese pouze jeden kladný náboj. Avšak katecholové skupiny má dvě a proto v alkalickém prostředí nese dva záporné náboje, což představuje dvojnásobnou elektrostatickou repulzi. Extrémní pH tedy destabilizuje **PDA**<sup>20</sup>.

#### 4.4.3 VLIV OXIDAČNÍCH ČINIDEL

**PDA** reaguje s chlornanem sodným a jodistanem draselným, přičemž se oxiduje a následně rozpadá. Rozpad se projeví rozpuštěním tmavého prášku a odbarvením roztoku **PDA**. FTIR analýza izolovaného produktu rozpadu odhalila přítomnost ketoskupin, což naznačuje oxidaci katecholových skupin v polymeru. Pro rychlou degradaci **PDA** postačuje koncentrace chlornanu sodného 1 mg/ml (cit<sup>2</sup>).

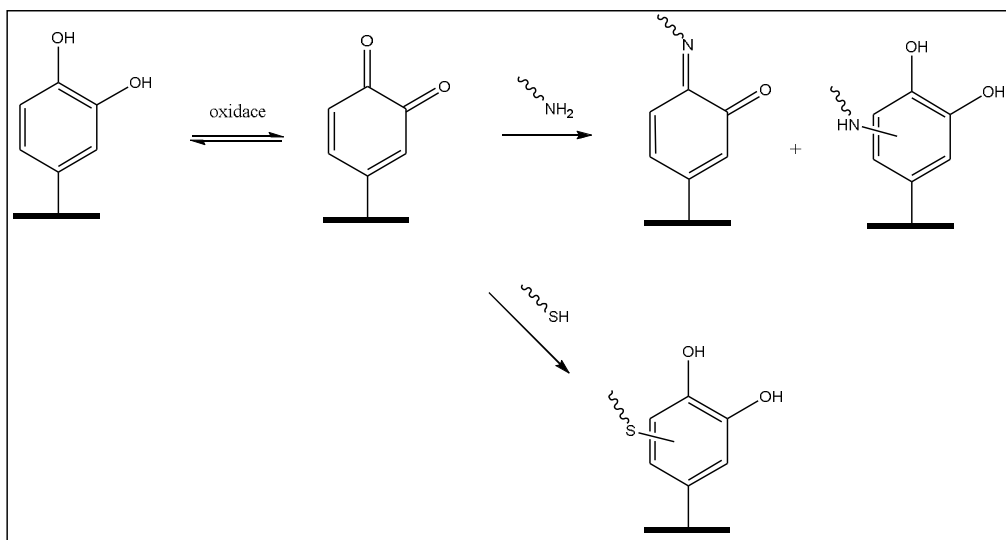
### 4.5 REAKTIVITA

Polydopaminová vrstva je reaktivní, čehož se dá využít při navazování některých látek, především aminů a thiolů. Mezi hydroxylovými (katecholovými) a chinonovými skupinami **PDA** a aminoskupinami aminu nebo thiolovými skupinami thiolu dochází k Michaelově adici, nebo k reakci Schiffových bází<sup>12,22,23,26</sup>.

#### 4.5.1 REAKCE S AMINY A THIOLY

Za mírně bazického prostředí jsou v rovnováze katecholové skupiny s chinonovými skupinami **PDA**, přičemž chinonové skupiny jsou extrémně reaktivní pro aminy a thioly a

podléhají Michaelově adici nebo reakci schiffových bazí (viz obr. 4.2). Reakce s thioley je přitom mnohem rychlejší než s aminy<sup>29</sup>. Již v roce 2009 byl na **PDA** úspěšně navázán 1-dodekathiol<sup>1</sup>. Později bylo publikováno vázání dalších thiolů, jako například 1-undekathiolu a 11-merkaptoundekanové kyseliny<sup>26</sup>, dále lipidů (dimyristoylfosfatidylcholin a dioleoylfosfatidylcholin)<sup>21</sup> i malých peptidů<sup>27</sup>.



**Obr. 4.2:** Schéma rovnováhy katecholu a o-chinonu v bazickém prostředí a následná reakce schiffových bazí a Michaelova adice aminů a Michaelova adice thiolů<sup>29</sup>.

#### 4.5.2 REDUKČNÍ VLASTNOSTI

**PDA** je mírné redukční činidlo. Je to způsobeno přítomností aminových a katecholových skupin na aromatickém jádře<sup>9</sup>. Katecholové skupiny se oxidují na chinonové a tím redukují příslušnou látku<sup>14</sup>. **PDA** má schopnost redukovat oxidy grafenu na jejich redukované formy<sup>13</sup> a ionty kovů, především stříbrné<sup>6,9,14</sup>, zlatité<sup>6,14,29</sup>, platité<sup>14</sup> a hlinité ionty<sup>29</sup> na dané neutrální nanočástice. Oxidačně redukční reakce probíhá v bazickém prostředí<sup>14</sup> a bez potřeby přidavku dalších činidel<sup>29</sup>.

#### 4.6 IMOBILIZACE ENZYMŮ A POLYMERŮ

Při polymeraci **PDA** je do něj možné imobilizovat enzymy, jako například lakázu, glukosaoxidázu<sup>36</sup>,  $\alpha$ - a  $\beta$ - amylázu<sup>11</sup>. Publikovány byly i imobilizace neutrálních polymerů (polyethylenglykol a polyvinylalkohol) pouhým smícháním jejich monomerů s **DA** před jeho polymerací<sup>17</sup>.

## 4.7 ANTIMIKROBIÁLNÍ VLASTNOSTI VZNIKAJÍCÍHO PDA

Vznikající **PDA** má baktericidní vlastnosti. Úspěšně to bylo prokázáno na pokusech s *Escherichia coli*. **PDA** při polymeraci bakterii obalí a tím znemožní její kontakt s okolím. Bakterie v důsledku neschopnosti přijímat živiny umírají. Minimální inhibiční koncentrace, což znamená nejnižší koncentrace, při které bakterie nerostou, je 100 mg/ml **DA**. Již desetina zmíněné koncentrace však stačí na výraznou inhibici růstu (až o 99% inhibice). Čím nižší je koncentrace bakterií, tím výraznější inhibice je pozorována. Zatímco při koncentraci bakterií  $10^{11}$  buněk/ml byla inhibice nepatrná, při koncentraci  $10^7$  buněk/ml byla výrazná<sup>37</sup>.

## 4.8 TOXICITA A BIODEGRADACE

Studia prokázaly minimální toxicitu **PDA** *in vitro* a *in vivo*. **PDA** navíc dokáže snížit nežádoucí účinky cizorodých látek v organismu. Dokonce ulehčuje adhezi a růst buněk *in vitro* nezávisle na pokrytém materiálu. Na zvířatech byl zjištěn medián  $LD_{50}$  pro intravenózní podání 483,95 mg/kg, což představuje nízkou akutní toxicitu<sup>14</sup>. Přitom **DA**, který je i v nezreagované formě obsažen v **PDA** (2.3.2) má  $LD_{50}$  (intravenózně, myš) 59 mg/kg<sup>38</sup>. **PDA** je oproti **DA** tak málo toxický díky tomu, že v něm **DA** vytváří stabilní komplex s **DHI**, který brání jeho uvolňování<sup>18</sup>.

Rychlost biodegradace je důležitá vlastnost látek pro medicínské aplikace, protože jejich dlouhodobé setrvání v organismu může mít vážné zdravotní následky. Pomalá degradace může představovat problém i v životním prostředí. Kousky **PDA** o rozměrech 0,1 x 5 mm se v organismu téměř úplně rozloží za 8 týdnů. **PDA** je také rozkládáno v půdě mikroorganismy<sup>14</sup>.

# 5 POKRÝVÁNÍ MATERIÁLŮ PDA VRSTVOU

## 5.1 ÚSPĚŠNĚ POKRYTÉ MATERIÁLY

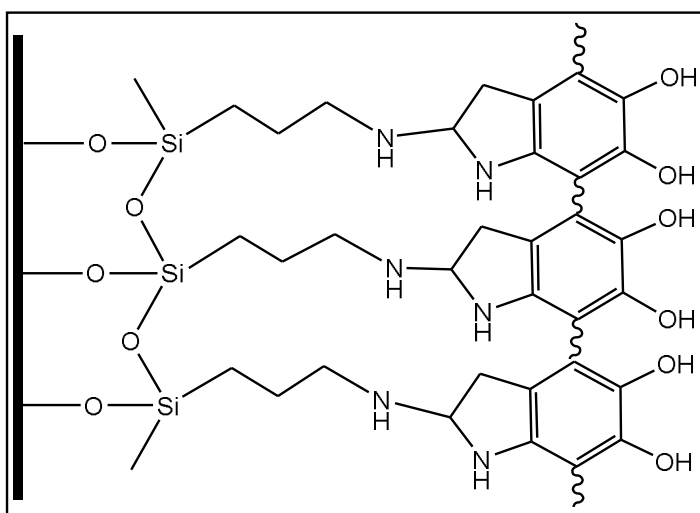
Polydopamin patrně pokryje každý povrch bez ohledu na jeho chemickou podstatu<sup>14</sup>. Zde je přehled úspěšně pokrytých materiálů pokrytých pro určité využití.

### 5.1.1 ANORGANICKÉ POVRCHY

Polydopamin úspěšně pokryl povrchy kovů (měď<sup>1</sup>, zlato<sup>24</sup>, hliníková fólie<sup>13</sup>) jejich slitin (ocel<sup>13</sup>), nanočástic ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ <sup>29</sup>,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ <sup>39</sup> a  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MnO}_2$ <sup>28</sup>), oxidů (oxid titaničitý<sup>35</sup>, oxid hlinitý<sup>12</sup>, oxid indito-ciničitý<sup>2</sup>), křemíkatých látek (sklo<sup>13</sup>, oxid křemičitý<sup>12</sup>, porcelán<sup>35</sup>, křemenná kapilára<sup>12</sup>), minerálů (slída<sup>21,35</sup>) a povrchy z nekovu (skelný uhlík<sup>2</sup>, což je speciální materiál na báze uhlíku, který se používá jako materiál pro elektrody<sup>40</sup>).

### 5.1.2 ORGANICKÉ POVRCHY

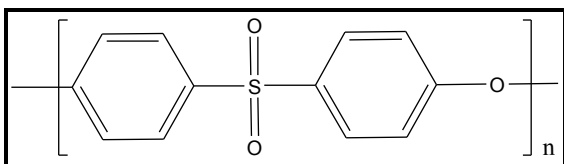
Z organických povrchů byla pokryta 3-aminopropyltriethoxysilanová vrstva (viz obr. 5.1)<sup>25</sup> a lipozomy.<sup>17</sup>



**Obr. 5.1:** Schematické znázornění vazby PDA na aminoskupiny vrstvy 3-aminopropyltriethoxysilanu navázané na silikonu znázorněného černou čarou<sup>25</sup>.

### 5.1.3 POLYMERY

Z polymerů se povedlo **PDA** navázat na stěnu **PET** láhve<sup>23</sup>, nitrocelulózu<sup>12</sup>, kopolymer poly(L-laktid-ko- $\epsilon$ -kaprolakton (**PLCL**)<sup>24,11</sup>, nylon<sup>20</sup>, **PTFE**<sup>29</sup> polydimethylsiloxan<sup>22</sup>, polyethersulfon (viz obr. 5.2)<sup>41</sup> a polystyren (**PS**)<sup>13,14,22</sup>. Z nanovlákných polymerů byly pokryty **PS**<sup>26</sup>, polyethylen (**PE**)<sup>14,29</sup>, polypropylen<sup>20</sup> a poly(vinyliden fluorid) (**PVDF**)<sup>20</sup>.



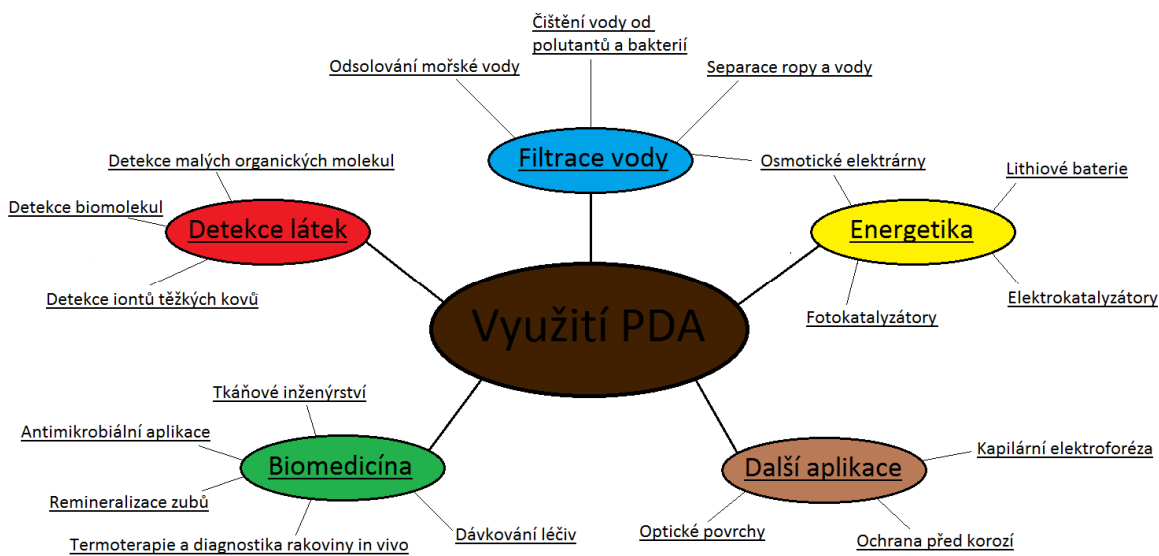
**Obr. 5.2:** *Strukturní vzorec polyethersulfonu*

## 5.2 ZMĚNA VLASTNOSTÍ POKRYTÝCH MATERIÁLŮ

Adhezi PDA se změni vlastnosti některých povrchů. Například měděné<sup>1</sup> a polystyrenové povrchy<sup>26</sup> se z hydrofobní změni na hydrofilní. Přitom je pozorována změna barvy. Čím je doba depozice delší, tím je povrch tmavší<sup>13</sup>.

## 6 MOŽNÉ APLIKACE

Polydopamin díky svým vlastnostem, jako je jednoduchost jeho přípravy, velká stabilita na substrátech a pokrytí jakéhokoliv povrchu, nachází využití v mnoha oblastech vědy. Obr. 6.1 znázorňuje stručný přehled jeho možného využití.



**Obr. 6.1:** *Potenciální využití PDA*<sup>12,13,14,41</sup>

## 6.1 ÚPRAVA VODY A ENERGETIKA

### 6.1.1 ČIŠTĚNÍ A PŘÍPRAVA PITNÉ VODY

Jednou z metod přípravy čisté vody je termální demineralizace mořské a brakické vody. Je však nákladná a v poslední době se nahrazuje technikou reverzní osmózy. Membrány, přes které se voda filtruje, zadržují velmi malé kontaminanty, jako jsou hydratované ionty. Alternativu představuje získávání vody přečištěním odpadní vody vznikající jako vedlejší produkt zpracování ropy a zemního plynu. Tato voda obsahuje rozptýlené oleje, soli, organické látky, kovy a chemikálie použité při zpracování ropy. Vyprodukuje se jí však tolik, že by se její čištění levným způsobem ekonomicky vyplácelo<sup>39</sup>.

Technika reverzní osmózy využívající polymerní membrány k čištění by dokázala vyřešit všechny problémy najednou. Samotná membrána však není velmi vhodná, protože se velmi rychle zaneše nečistotami a to by zvyšovalo nákladnost celého procesu. Řešením by bylo zvýšení její odolnosti vůči nečistotám jednoduchou modifikací. Takovou modifikaci představuje pokrývání **PDA**. Předpoklad takovýchto vlastností **PDA** vycházel z vlastností **DOPA**. Byla použita k pokrytí membrány, jež pak vykazovala rezistenci vůči zanešení hovězím sérovým albuminem, alginátem sodným a dodecyltrimethylbromidem amonným. Podobné vlastnosti byly následně prokázány i pro **PDA**. Množství propuštěné čisté vody závisí na čase depozice a pH. Čím delší byla doba depozice, tím byl proud vody slabší. Odolnost membrány vůči nečistotám však výrazně vzrostla<sup>39</sup>.

### 6.1.2 OSMOTICKÉ ELEKTRÁRNY

K výrobě elektrické energie se dá využít tlaková zpětná osmóza jako alternativní zdroj energie. Jedná se o proces, k němuž dochází při rozdělení dvou roztoků o rozdílné salinitě polopropustnou membránou. Molekuly rozpouštědla (vody) proudí z roztoku s nižší salinitou do roztoku s vyšší salinitou, čímž konají práci ve formě tlakové energie. Tuto práci je možné přeměnit v elektrickou energii<sup>41</sup>.

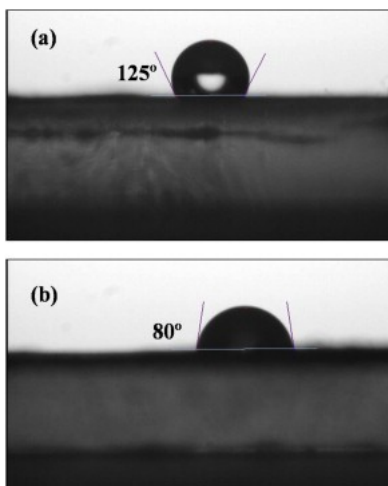
Pro polopropustnou membránu je důležité, aby měla velkou plochu, byla mechanicky odolná a propouštěla co největší množství vody. Jako modelová membrána byla použita



membrána z polyethersulfonu, na kterou byl navázán **PDA**. To vedlo k zlepšení propustnosti vody a mechanické pevnosti membrány<sup>41</sup>.

### 6.1.3 LITHIOVÉ BATERIE

Nanovláknenné membrány z **PVDF** nebo **PE** se používají jako diafragmy elektrod v lithiových bateriích. Použitím **PDA** se zlepší schopnost diafragmata absorbovat elektrolyt a zvýší se iontová vodivost. Zkvalitní se tím i baterie samotná, protože se zvýší nabíjecí – vybíjecí kapacity a výkony cyklů. Při použití neupravené **PE** membrány byla baterie zcela vyčerpána po 30 nabíjecích cyklech. Baterie s **PE** diafragmatem pokrytým **PDA** měla po 100 cyklech téměř 95% své původní kapacity. Velkou zásluhu na vylepšení všech vlastností má změna smáčivosti povrchů polymerů, které se po úpravě s **PDA** stanou hydrofilní. Míru „hydrofilnosti“ určuje tzv. kontaktní úhel kapky vody s povrchem (viz obr. 6.2). Z obr. 6.2 vyplývá, že čím je kontaktní úhel větší, tím je látka hydrofobnější. U **PVDF** se kontaktní úhel použitím **PDA** zmenšil ze 125 ° na 80 ° a u **PE** se použitím **PDA** zmenšil ze 108 ° na 39 °.<sup>(14,42)</sup>



**Obr. 6.2:** Kontaktní úhel kapky vody s **PVDF** před navázáním **PDA** (a) a po něm (b)<sup>42</sup>

### 6.1.4 KATALYZÁTORY

Polydopaminová vrstva vlastnostmi konkuruje některým dnes používaným elektrokatalyzátorům a výrazně zvyšuje účinnost fotokatalyzátorů.

Tradičně se jako elektrokatalyzátory na katodě pro redukční reakci kyslíku používají platinové katalyzátory, které jsou drahé a mají omezenou životnost. Pomalu je proto nahrazují katalyzátory na bázi uhlíku s inkorporovaným dusíkovým heteroatomem, protože jsou

levnější a mají delší životnost než platinové elektrody. Bylo prokázáno, materiál upravený pomocí **PDA** zvýší počet aktivních míst na elektrodě. Pokrytím elektrody se kromě toho zvýší heterogenita jejího povrchu. Byla již prokázána vyšší katalytická aktivita dutých **PDA** nanosfér než Pt/C katalyzátoru<sup>14</sup>.

Fotokatalyzátory, například TiO<sub>2</sub>, CeO<sub>2</sub>, ZnO, nebo stříbrné nanočástice, jsou využívány k degradaci barviv v odpadních vodách. Dokáží to díky svým oxidačním vlastnostem, nebo generací reaktivních kyslíkových částic (**ROS**). Polydopamin nemá tuto schopnost, výrazně však zvyšuje účinnost jiných katalyzátorů Synergický efekt **PDA** vrstvy a stříbrných nanočásticích byl demonstrován při degradaci neutrální červeně ve vodě. Pod UV světlem stříbrné nanočástice generují páry elektron-díra, které mají schopnost zachytit a přeměnit hydroxidový anion na hydroxylový radikál a molekuly kyslíku na superoxidové anionty. **PDA** pomáhá při adsorpci neutrální červeně na povrch stříbrných částic, což vede k urychlení degradace. Páry elektron – díra se mají tendenci rekombinovat a tím zanikat. Polydopamin však pod UV zářením generuje další díry, čímž prodlouží dobu rekombinace elektronů a děr generovaných ze stříbrných nanočástic. To přispěje k vzniku většího počtu **ROS**. Regenerace těchto katalyzátorů je jednoduchá a vzhledem k jejich ceně i ekonomicky výhodná<sup>14</sup>.

## 6.2 DETEKCE LÁTEK

### 6.2.1 IONTY TĚŽKÝCH KOVŮ A PEROXID VODÍKU

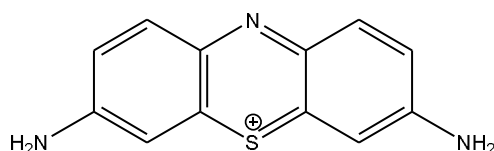
Polydopamin byl použit pro vývoj elektrochemické metody detekce olovnatých a kadmennatých iontů založené na jejich adsorpci na **PDA** vrstvu. Při vložení daného napětí do roztoku obsahujícího Pb<sup>2+</sup> a Cd<sup>2+</sup> jsou tyto ionty redukovány a rozprostřeny na povrchu elektrody, což vede ke změně tekoucího proudu. V porovnání s jinými systémy vykazuje tato metoda vyšší citlivost, menší interference, nižší cenu a vyšší stabilitu<sup>14</sup>.

Také pro detekci peroxidu vodíku bylo vyvinuto několik elektrochemických metod využívajících **PDA**. Jejich vlastnosti a role **PDA** jsou shrnuty v tabulce 6.1.

Tabulka 6.1: Elektrochemické detekce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> využívající **PDA**<sup>15,43,44,45</sup>

Elektroda (EL)	Role PDA	Detekční látka	Rozsah stanovitelnosti (mmol/l)*	Mez detekce
EL ze skelného uhlíku s dvojitou lipidovou membránou a křenovou peroxidázou ( <b>HRP</b> )	Pokrytí membrány, bránění uvolnění detekční látky	<b>HRP</b>	$2,5 \cdot 10^{-4} - 3,1$	0,1 μM
EL ze skelného uhlíku	<b>PDA-Ag</b> mikrosféry pokryjí el.	PDA-Ag vrstva	$9,2 \cdot 10^{-2} - 20$	Neuvádí se
EL ze skelného uhlíku	<b>PDA</b> pokryje elektrodu, substrát pro DNAzym	Deoxyribozym (DNAzym) G-kvadruplex-hemin	$1 \cdot 10^{-2} - 1,5$	2,2 μM
3D grafenová el. funkcionalizovaná grafenovou pěnou	Krycí materiál představující substrát pro thionin	Thionin (viz obr. 6.3)	$4 \cdot 10^{-4} - 0,660$	~ 80 nM

\*pod rozsahem stanovitelnosti se rozumí oblast lineární odezvy měřeného proudu v závislosti na koncentraci peroxidu vodíku



**Obr. 6.3:** *Strukturní vzorec thioninu*

## 6.2.2 ORGANICKÉ LÁTKY

Již zmíněna schopnost **PDA** imobilizovat lakázu (2.3.1) byla použita pro vylepšení elektrochemického stanovení hydrochinonu. Imobilizovaná lakáza si díky vysoké biokompatibilitě **PDA** zachovala svou aktivitu. V roce 2010 byla tímto způsobem imobilizována na vícestěnné uhlíkové nanotrubičky („multiwalled carbon nanotubes“, **MWCNTs**) a později na magnetické Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanočástice. Nanočástice byly následně zachyceny na magnetickou zlatou elektrodu a povedlo se detegovat hydrochinon o koncentraci 30 nmol/l (cit. <sup>14</sup>).

### 6.2.3 STANOVENÍ BIOMOLEKUL

Když se lakáza nahradí enzymy katalyzujícími oxidace sacharidů (např. glukosaoxidáza, galaktooxidáza) získá se senzor na jejich stanovení. Bylo prokázáno, že tyto enzymy se dají zakotvit souběžně s platinovými nanočásticemi. Dosáhne se toho pouhým smícháním **DA**, enzymu a  $\text{H}_2\text{PtCl}_6$  v bazickém prostředí.  $\text{H}_2\text{PtCl}_6$  jako oxidační činidlo spustí polymeraci **DA** a samo se zredukuje na platinové nanočástice. Směs se následně elektrochemicky nanese na zlatou elektrodu. Výsledná vrstva začne oxidovat příslušný sacharid a produkovat peroxid vodíku, který se prostřednictvím platiny oxiduje a poskytuje elektrochemické signály. Analogicky je možné platinu nahradit zlatými nanočásticemi použitím v úvodním kroku kyseliny chlorozlatitou ( $\text{HAuCl}_4$ ) místo  $\text{H}_2\text{PtCl}_6$  (cit. <sup>14</sup>).

## 6.3 BIOMEDICÍNSKÉ APLIKACE

Díky své biokompatibilitě nachází **PDA** nejširší uplatnění právě v biomedicině.

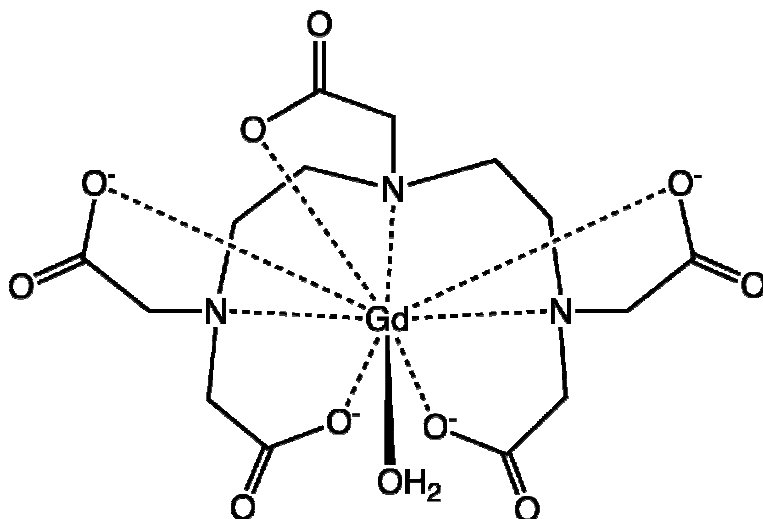
### 6.3.1 TERMOTERAPIE RAKOVINY A DIAGNOSTIKA *IN VIVO*

Termoterapie je založena na likvidaci rakovinových buněk jejich zahřátím. K tomu slouží blízké infračervené záření (700 – 1300 nm), které není normálními tkáněmi téměř vůbec absorbováno. Proto proniká mnohem hlouběji než viditelné a UV záření. Díky svým neinvazivním vlastnostem a vysoké selektivitě by v nejbližší době mohla nahradit dosavadní terapie, jako je operativní zákrok, radioterapie a chemoterapie, které mají nežádoucí vedlejší účinky<sup>14</sup>.

V roce 2013 byly testovány zlaté nanotrúbky pokryté **PDA** vrstvou jako fototermální terapeutické činidla. **PDA** vrstva dělá nanotrúbky biokompatibilní a zároveň vykazuje silnou absorpci v blízké infračervené oblasti. Výzkum prokázal dobrou terapeutickou účinnost nanotrúbek *in vitro*<sup>14</sup>.

Na základě dobré účinnosti nanotrúbek byly pro terapeutické účely testovány polydopaminové koloidní nanočástice. Jsou stabilní ve vodě a pro veškeré buňky takřka neškodné. Když se ozáří laserem se zářením o 808 nm, zahřejí se na teplotu, která je schopna zabít rakovinové buňky za pouhých 500 sekund. Laboratorním myším byly vyléčeny tumory za jeden měsíc terapie, přičemž se nepozoroval jejich návrat<sup>14</sup>.

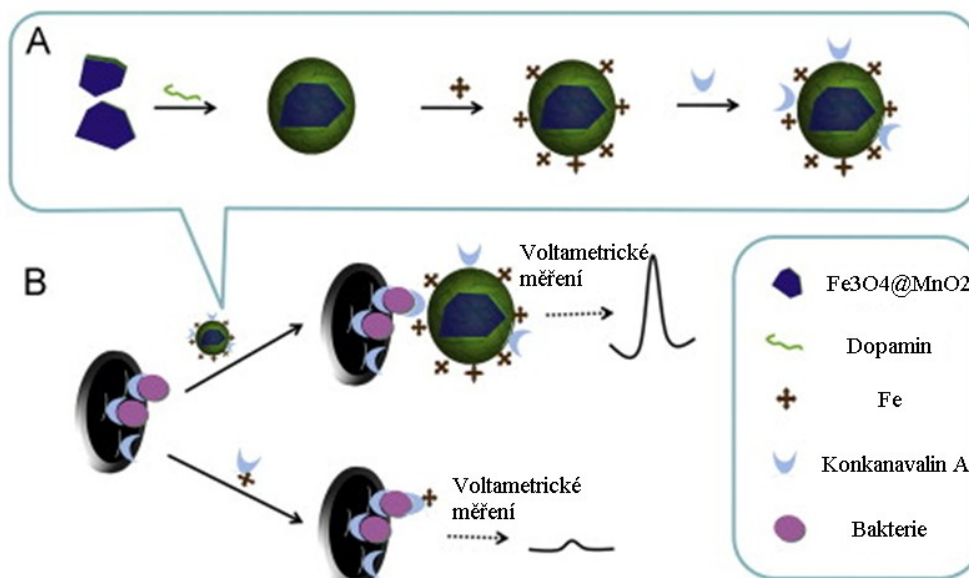
Díky reaktivitě PDA bylo na polydopaminové koloidní nanočástice možné navázat další užitečné látky, jakou je například kyselina gadopentetová (**Gd-DTPA**, viz obr. 6.4) používaná na zobrazování v magnetické rezonanci. Tím bylo možné provádět terapií a sledovat její vývoj pomocí magnetické rezonance.<sup>14</sup>



**Obr. 6.4:** *Strukturní vzorec Gd-DTPA.*

### 6.3.2 DETEKCE BAKTERIÍ

Byly připraveny nanočástice schopné vytvořit sendvičový imunosenzor s bakteriemi. Jádro nanočástice tvoří  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MnO}_2$ , jenž je pokrytý **PDA** vrstvou. Na ní jsou navázané ferroceny (signalizační molekuly) a konkanavalin A (lektin, jenž se specificky váže na mannosylové skupiny bakteriálních membrán). Po navázání těchto nanočástic na bakterie se ferrocenové značky mohly detegovat voltametriky díky jejich oxidačně redukční aktivitě. V porovnání s postupem detekce využívající pouze ferroceny navázané na konkanavalinu A se dosáhlo vyššího ferrocenového oxidačně redukčního proudu, čímž se zvýšila rozlišovací schopnost (viz obr. 6.5).<sup>28</sup>



**Obr. 6.5:** Zjednodušené modely a porovnání signálů voltammetrických metod detekce bakterií bez a s využitím PDA<sup>28</sup>.

### 6.3.3 OCHRANA PŘED BAKTERIEMI A HOUBOVÝMI INFEKCEMI

Redukční vlastnosti **PDA** byly využity k redukci stříbrných iontů na elementární stříbro. Elementární stříbro je známé svými antibakteriálními účinky.<sup>(9,22)</sup> Stříbrné ionty se nanesly na bakteriální celulózu s **PDA** vrstvou tím, že se nanovláknna vložily do roztoku dusičnanu stříbrného. Antibakteriální účinky této vrstvy byly potvrzeny testy s baktériemi *E.coli* a *B.subtilis*<sup>9</sup>.

Další možností, jak vyrobit povrchy s antimikrobiální aktivitou, je přímé navázání baktericidních látek na **PDA**. Mezi takové látky patří například kvarterní amoniové sole a antimikrobiální peptidy. Na **PDA** vrstvu je možné jejich navázání pomocí jejich thiolových skupin a aminoskupin. Takto upravená vrstva inhibuje růst bakterií *E. coli* a *S. Aureus*<sup>27</sup>.

Houbové infekce představují závažný problém hlavně pro hospitalizované pacienty. Existuje pouze několik povolených fungicidních látek. Proto je nutné využít je co nejefektivněji, a to jejich implementací do fungicidních vrstev. Amfotericin B, velmi silný fungicid, byl začleněn do křemíkových nanočástic, které byly následně imobilizovány na skleněném povrchu pokrytím **PDA** vrstvou. Bylo prokázáno, že tyto povrchy vykazují silné fungicidní účinky a zároveň nejsou cytotoxické vůči jednojaderným buňkám a erytrocytům<sup>29</sup>.

#### 6.3.4 DÁVKOVÁNÍ LÉČIV

Vysoká adhezivní schopnost a zwitterionicitu **PDA** se dá využít k rychlému zavádění a regulovanému uvolňování léků z nanovláknenných matic. První studie byla prováděna na nanovláknenném **PCL** pokrytém vrstvou **PDA** a jako modelová molekula byla použita rhodamin 6G. Na rozdíl od čistého **PCL** bylo pozorováno rychlejší zavádění a adsorpce léku do **PCL** s **PDA** vrstvou, zatímco jeho zpětné uvolňování bylo modifikovaným **PCL** brzděno. Bylo navrženo, že jeho uvolňování by se dalo kontrolovat pomocí pH. Kromě menších molekul byly testovány i růstové faktory a malé interferující ribonukleové kyseliny<sup>11</sup>.

#### 6.3.5 REGENERACE TKÁNÍ

Regenerace tkání se provádí umístěním nové náhradní tkáně na místo poškozené nebo chybějící tkáně. Hlavní kritéria, které by měl splňovat nosný materiál buněk, je dokonalé napodobení extracelulárního prostoru spolu s jeho biokompatibilitou a snadnou biodegradací<sup>11</sup>.

Syntetické polymerní tkáně často neumožňují aktivně kontrolovat interakce mezi transplantátem a buňkami. Velmi perspektivní se ukazují polymerní nanovláknenné materiály. Modifikací jejich povrchů bioaktivními molekulami a ligandy, které jsou rozpoznatelné buňkami by se získal ideální materiál k tkáňovému inženýrství. Pro tento účel byla testována úprava nanovláknenných materiálů pomocí **PDA**<sup>11</sup>.

Savčí buňky mají schopnost adheze na substrát, rozšiřovat se a vytvářet na něm cytoskelet. Několika studiemi bylo prokázáno, že savcím a i lidským buňkám se na **PDA** vrstvě daří přežít velmi úspěšně a vytvářet mezibuněčný prostor. Zvýšená adheze buněk na **PDA** je vysvětlována povahou **PDA**, na kterou se úspěšně přichytí sérové proteiny a podpoří tak adhezi. Úspěšně byla demonstrována nezávislost typu nanovláken na účinnosti adheze, testované byly například **PCL**, **PE**, **PTFE** a poly (L-laktid)<sup>11</sup>.

#### 6.3.6 REMINERALIZACE ZUBŮ

Remineralizace je proces posilování zubní struktury inkorporací vápníku, fosfátu a/nebo fluoridového aniontu<sup>46</sup>. Používá se při vzniku neprůhledných zubních lézí, což jsou demineralizovaná místa na sklovině. Existuje několik technik remineralizací, dobře známá je

technika využívající fluoridy, k novějším patří využití kaseinfosopeptid amorfního fosforečnanu vápenatého a kaseinfosopeptid amorfního fosforečnanu fluoridu vápenatého<sup>47</sup>. Všechny se ale zaměřují na remineralizaci zubní skloviny, ale nejsou schopny opravit poškozený dentin<sup>14</sup>.

Schopnost **PDA** vyvolat tvorbu hydroxyapatitových krystalů spolu s jeho adhezivní schopností byla studována s cílem najít účinnou metodu pro remineralizaci dentinu. Nejprve byl na porušená místa navázán **PDA**. Poté následovala remineralizační procedura, po které byly pozorovány formující se krystalky uhličitanu-hydroxyapatitu. Jejich tvrdost nedosahovala tvrdosti neporušeného dentinu, byla ale vyšší než tvrdost dentinu poleptaného kyselinou. Navíc, vytvořená vrstva byla schopna chránit před tím porušenou zubovinu před studenými, teplými, kyselými a sladkými podněty<sup>14</sup>.

## 6.4 DALŠÍ VYUŽITÍ

### 6.4.1 ZLEPŠENÍ SEPARACE PROTEINŮ KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZOU

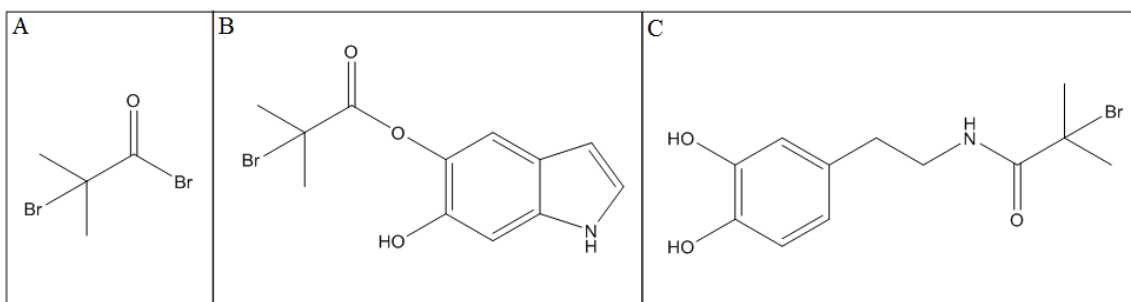
Coulombické a hydrofobní interakce mezi kapilárou a proteiny brání v jejich účinné separaci. Doposud byly upravovány roztoky proteinů (např. úprava pH, iontové síly atd.), nejnověji jsou vyvíjeny úpravy separační kapiláry. Jedna z nich využívá **PDA** jako mezivrstvu, která se naváže na vnitřní povrch kapiláry. Ta se následně nechá reagovat s amino funkcionalizovaným polyethylenglykolem. Takto upravená kapilára poskytuje lépe rozlišitelné píky, na rozdíl od neupravené kapiláry<sup>12</sup>.

### 6.4.2 OPTICKÉ MATERIÁLY

Hnědá barva **PDA** představuje překážku při jeho využití v optických materiálech. Proto se začalo pátrat po způsobu, jak připravit bezbarvý **PDA**<sup>48</sup>. V roce 2010 byla vyvinuta metoda na modifikaci dopaminu s 2-bromisobutyryl bromidem (**BIBB**). Samotný derivát dopaminu (**BIBB-DA**) nedokáže polymerovat, ale dokáže se začlenit do vznikajícího **PDA**, když kopolymerizuje spolu s **DA**<sup>13</sup>.

V roce 2013 byly k přípravě **PDA** s **BIBB** derivátem použity rozdílné poměry iniciačních koncentrací **BIBB** a **DA**. Při poměru koncentrací **BIBB** a **DA** rovnému dvěma byla **PDA** vrstva několikanásobně tenčí než v nepřítomnosti **BIBB**, byla však průhledná<sup>48</sup>.





**Obr. 6.5:** Molekula **BIBB** (A) a její možné navázání na katecholovou (B) a aminoskupinu **DA** (C). Dopusud není známo, na kterou skupinu se skutečně váže<sup>13,48</sup>

### 6.4.3 OCHRANA KOVŮ PŘED KOROZÍ

Koroze kovů představuje velký problém v průmyslu. Například měď je velmi citlivá na chloridové anionty v roztocích. Úpravou měděných povrchů hydrofobní látkou by představovalo jedno možné řešení. Žádná dosavadní technika však nenaváže hydrofobní látku dostatečně silně na to, aby vydržela kyselé prostředí, které se vyžaduje její pokrývání. Mnohem silnější vazba by se dala vytvořit použitím mezivrstvy s vysoce adhezivními vlastnostmi. Pro tento účel se zkoumala vrstva **PDA**. Michaelovou adicí byl na **PDA** navázán 1-dodekathiol. Povrch se tím stal extrémně hydrofobní s kontaktním úhlem 120 °, což je víc, než má samotná měď (kolem 90 °). Vrstva účinně bránila korozi a byla vysoce stabilní při dlouhodobém testování v mořské vodě<sup>1</sup>.

## 7 CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo:

- I. Shrnout v podobě rešeršní práce dosavadní poznatky o polydopaminu, jeho vlastnostech a využití při modifikaci povrchů materiálů.
- II. Experimentálně ověřit možné aplikace PDA na povrchy nanovlákných materiálů.

## 8 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 8.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A NANOVLÁKENNÉ MATERIÁLY

#### 8.1.1 CHEMIKÁLIE

Dopamin hydrochlorid (p.a., Sigma-Aldrich)

Tris(hydroxymethyl)aminomethan ( $\geq 99.9\%$ , Sigma-Aldrich)

Methanol ( $\geq 99.9\%$ , Sigma-Aldrich)

Ethanol (p.a., PENTA)

#### 8.1.2 NANOVLÁKENNÉ MATERIÁLY

Polymerní nanovláknenné materiály, polykaprolakton (PCL), polyuretan Larithane<sup>TM</sup> (PUR Larithane), polyuretan Tecophilic<sup>TM</sup> (PUR Tecophilic) a polystyren (PS) byly připraveny Dr. Lukášem Plíštěm (FNKV, Praha) metodou elektrospining.<sup>49</sup>

### 8.2 PŘÍSTROJE A METODY

**SEM** snímky modifikovaných **PDA** a nemodifikovaných vzorků nanovláknenných vrstev byly pořízeny na přístroji FEI Quanta 200 s Everhart-Thornley sekundárním elektronovým detektorem. Průměry nanovláken byly zjištěny pomocí softwaru pro obrazovou analýzu NIS Elements 4.0 (Laboratory Imaging).

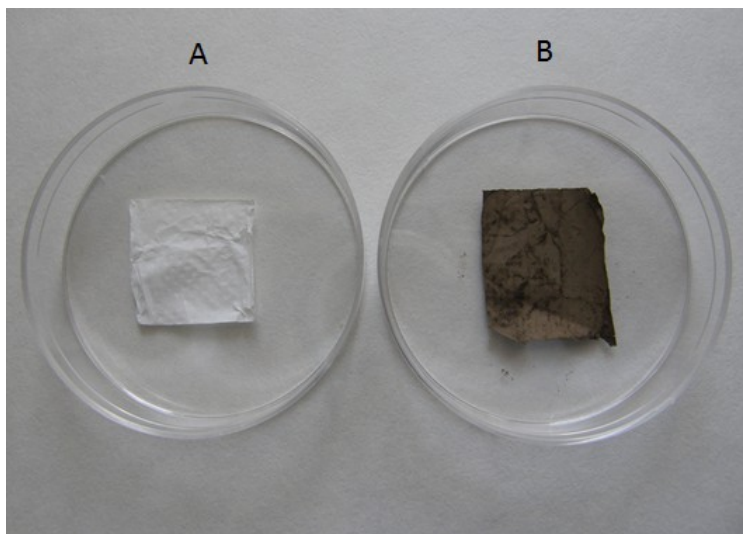
### 8.3 VÝSLEDKY A DISKUZE

#### 8.3.1 MODIFIKACE NANOVLÁKENNÝCH MATERIÁLŮ **PDA** VRSTVOU

K navazování vrstvy **PDA** na připravené nanovláknenné materiály byl použit roztok **DA** (2 mg/ml) v **TRIS** pufru (10 mmol/l, pH 8,5).

Nanovláknenné materiály **PCL**, **PS**, **PUR** Tecophilic a **PUR** Larithane (cca 6 cm<sup>2</sup>) byly ponořeny do vzduchem saturovaného roztoku **PDA** po dobu 6, 12, 18 (vyjma **PUR** Tecophilic) a 24 hodin. Roztok **DA** s nanovláknennými materiály byl po celou dobu míchán na třepačce (cca 70 otáček/min). Pro lepší smáčivost byly **PS** a **PUR** Larithane ponořeny do methanolu a následně do čerstvě připraveného roztoku **DA**.

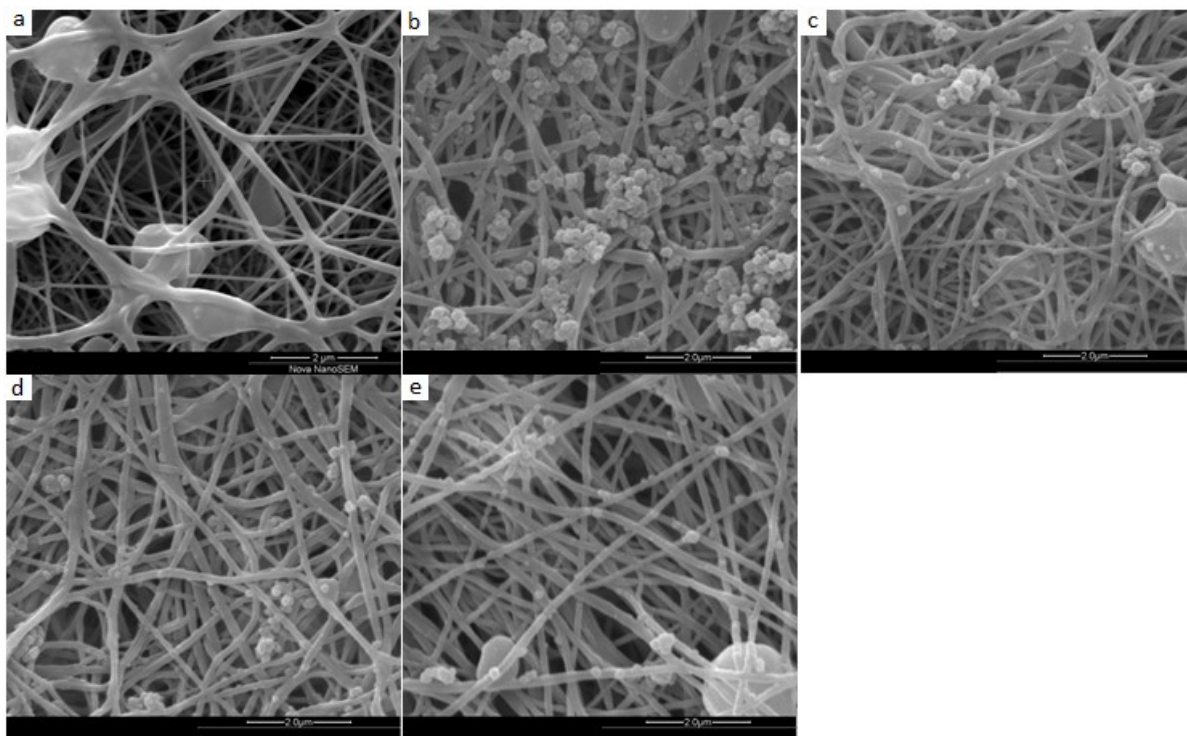
Po deponování vrstvy PDA na povrch nanovláknenných materiálů byly vzorky důkladně promyty dest. vodou, vysušeny při 40°C a analyzovány pomocí SEM na skenovacím elektronového mikroskopu.



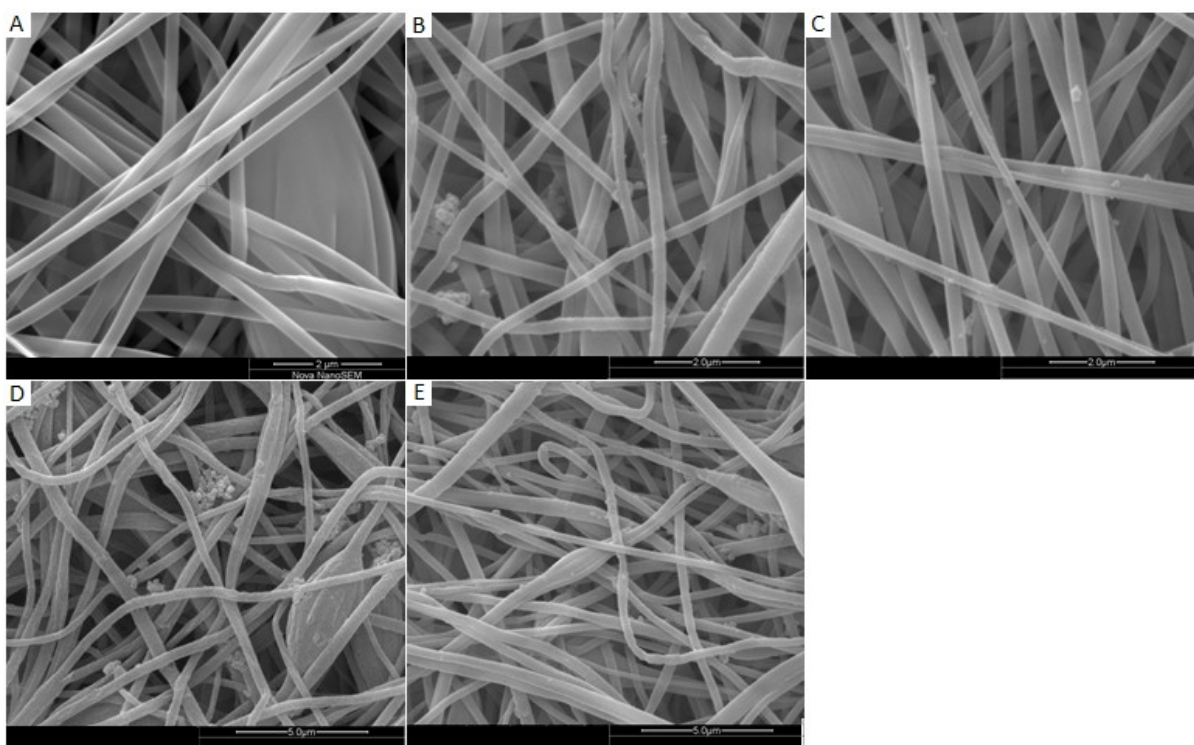
**Obr. 8.1:** *PCL před (A) a po (B) navázání PDA*

### 8.3.2 SNÍMKY NANOVLÁKENNÝCH MATERIÁLŮ ZE SKENOVACÍHO ELEKTRONOVÉHO MIKROSKOPU

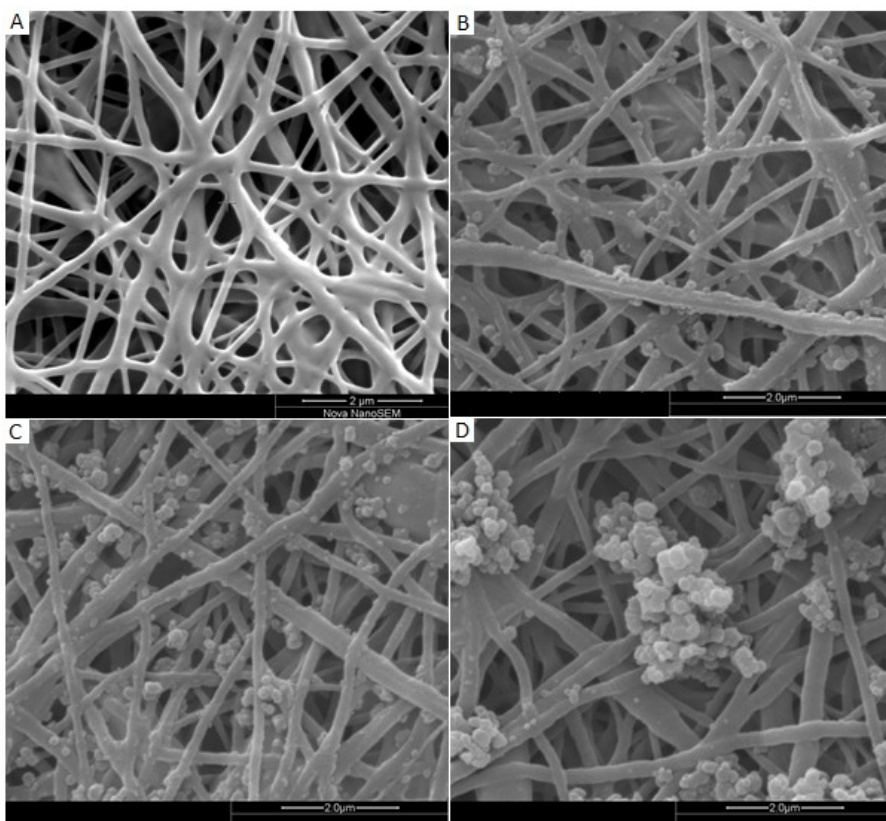
K potvrzení zachování nanovláknenné struktury nanovláknenných materiálů a zjištění průměrů jejich vláken byly pořízeny SEM snímky. Jak je vidět na SEM snímcích (obr. 8.2 – 8.5), nanovláknenná struktura byla zachována u všech použitých nanovláknenných materiálů i po 24 hodinové depozici PDA. Malé sférické útvary patrné na SEM snímcích modifikovaných nanomateriálů jsou s největší pravděpodobností polydopamin.



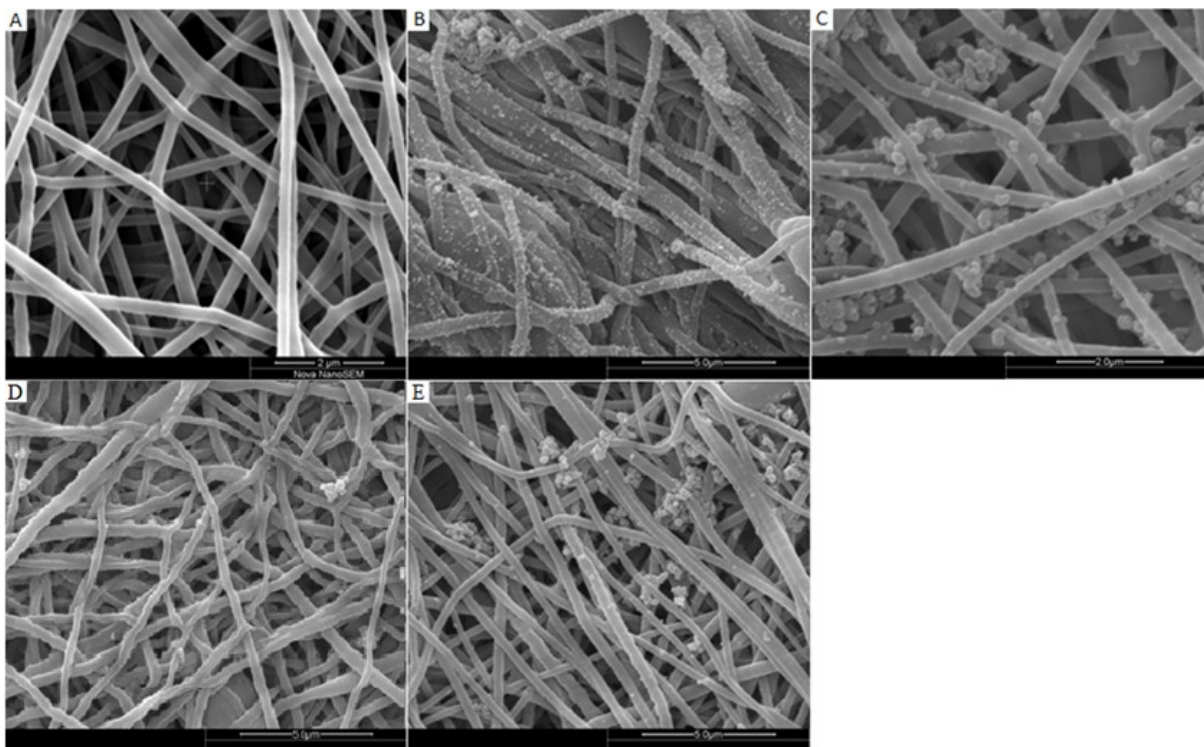
**Obr. 8.2:** SEM snímky polykaprolaktonu exponovaného PDA 0 hodin (a) 6 hodin (b) 12 hodin (c) 18 hodin (d) a 24 hodin (e).



**Obr. 8.3:** SEM snímky polystyrenu exponovaného PDA 0 hodin (A) 6 hodin (B) 12 hodin (C) 18 hodin (D) a 24 hodin (E).



**Obr. 8.4:** SEM snímky PUR Tecophilicu exponovaného PDA 0 hodín (A) 6 hodín (B) 12 hodín (C) a 24 hodín (D).



**Obr. 8.5:** SEM snímky PUR Laritanu exponovaného PDA 0 hodín (A) 6 hodín (B) 12 hodín (C) 18 hodín (D) a 24 hodín (E).

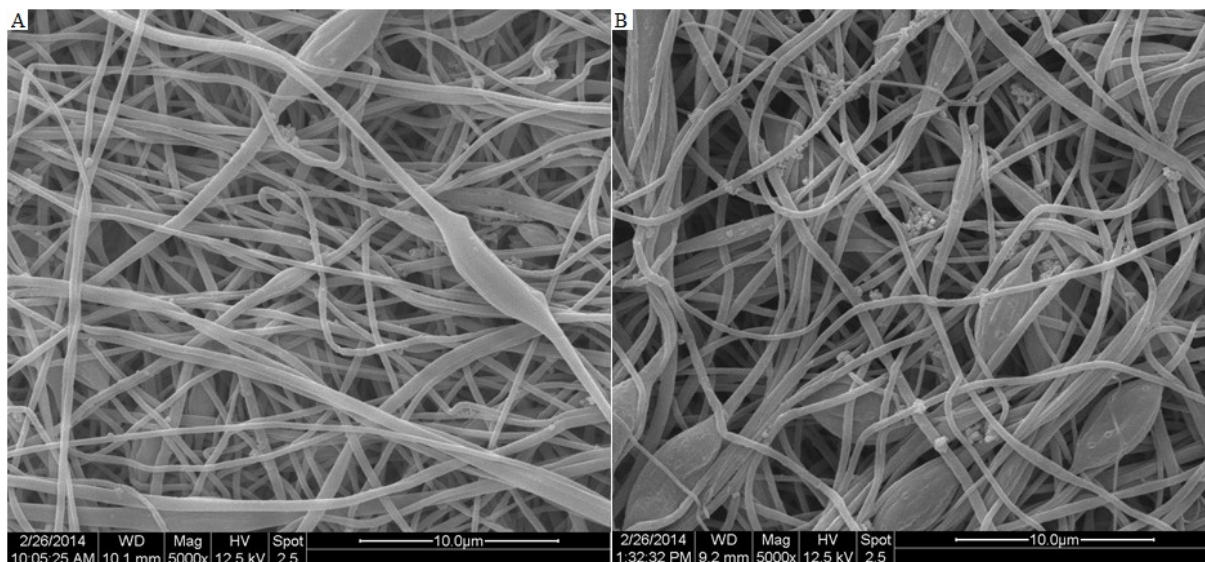


### 8.3.3 VYHODNOCENÍ PRŮMĚRŮ NANOVLÁKENNÝCH MATERIÁLŮ

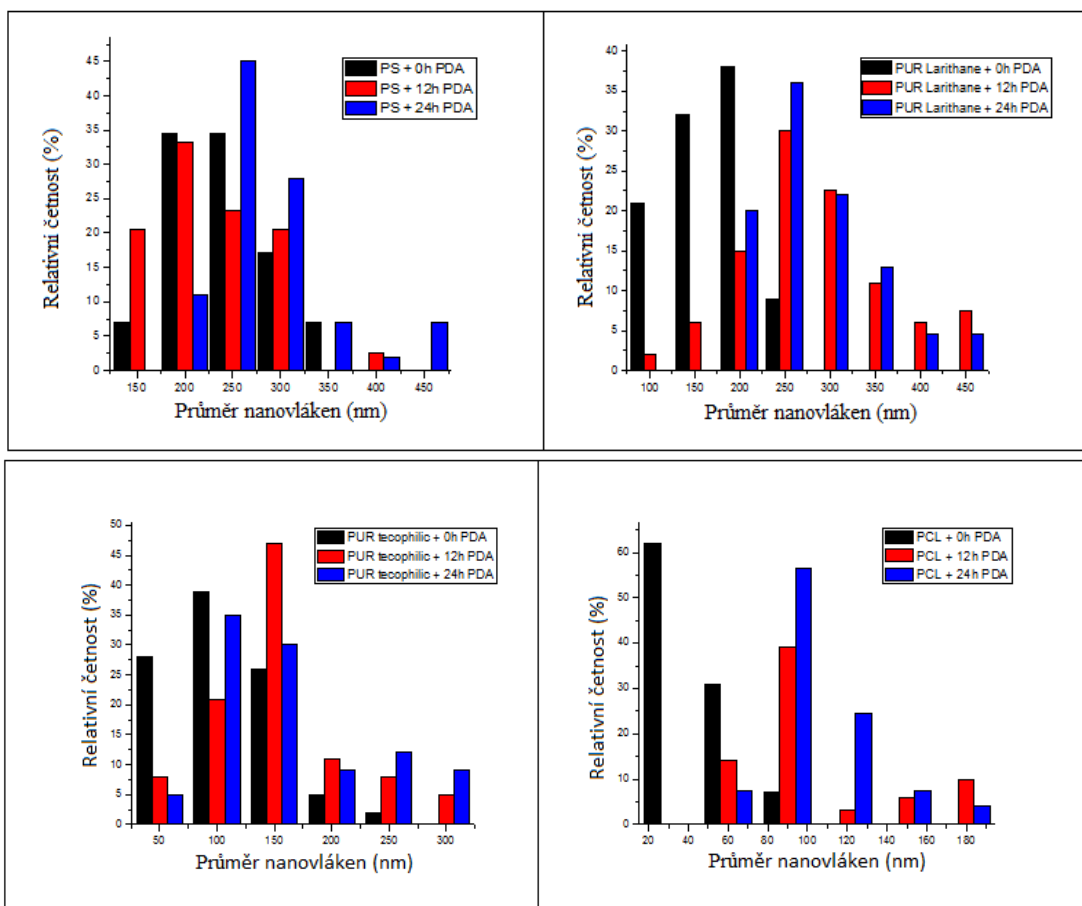
Hydrofobní **PS** vykazoval menší růst průměru svých vláknec, než hydrofilní nanovláknenné materiály (**PCL** a **PUR Tecophilic**) (viz tab. 8.1). Všechny tři po 24 hodinách narostly v průměru o 50 – 60 nm. Růst průměrů vláken **PUR** Larithanu byl odlišný od ostatních pravděpodobně kvůli účinku methanolu, kterým byl ošetřen před navazováním **PDA** vrstvy. Při ponoření **PS** a **PUR** Larithanu na několik sekund do ethanolu došlo ke smrštění těchto nanovláknenných materiálů (viz obr. 8.6 a 8.8), přičemž příčina tohoto jevu není známá.

**Tab. 8.1:** Průměry nanovláknenných materiálů v nm.

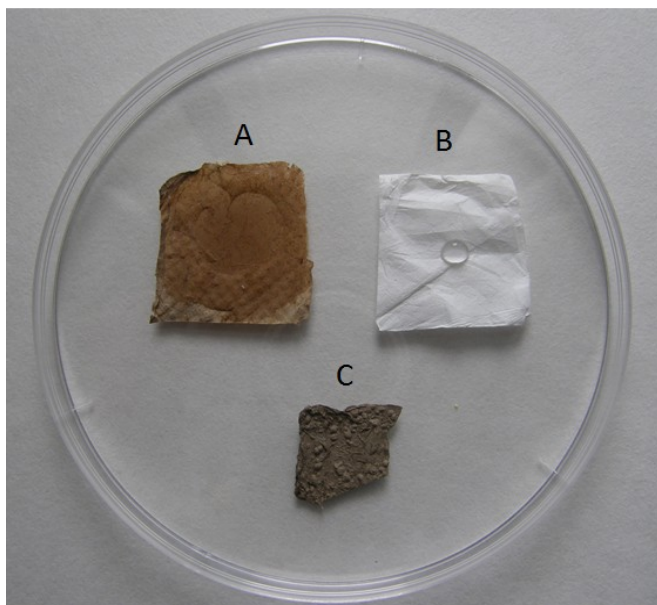
Čas depozice	0 h	6 h	12 h	18 h	24 h
Průměry <b>PCL</b> nanovláken (nm)	60 ± 20	100 ± 20	110 ± 30	120 ± 30	120 ± 20
Průměry nanovláken <b>PUR</b> Tecophilic (nm)	130 ± 50	150 ± 50	190 ± 60	-	190 ± 70
Průměry <b>PS</b> nanovláken (nm)	270 ± 60	270 ± 80	250 ± 70	310 ± 90	320 ± 110
Průměry nanovláken <b>PUR</b> Larithane (nm)	190 ± 40	370 ± 70	350 ± 80	300 ± 70	310 ± 60



**Obr. 8.6:** *PS* po 24 hodinách navazování *PDA* (A), a po 18 hodinách navazování *PDA* a vystaven ethanolu, po čem se nanovláknna „srazily“ (B). Patrný je zvýšený počet zhrubnutých útvarů na vláknech po expozici ethanolem.



**Obr. 8.7:** Diagramy zobrazující distribuci průměrů vláken nanovláčkových materiálů v jednotlivých časech navazování PDA.



**Obr. 8.8:** PS nanovláčka modifikované (A) a nemodifikované polydopaminem (B) ponášení 20  $\mu$ l destilované vody. Modifikovaný PS (C) byl na několik hodin ponořen do ethanolu o čistotě p.a a následně do vody. Jeho původní velikost přibližně odpovídá velikostem prvních dvou vzorků.



V případě nanovlákněného PS a PUR larithane se navázáním PDA změnil jejich povrch z hydrofobního na hydrofilní (viz obr. 8.8). Díky tomu se s nimi ve vodném prostředí pracovalo mnohem lépe. Kvůli citlivosti na ethanol se ním nemohou promývat, což je v literatuře doporučená procedura<sup>2</sup>. Proto se pro další studium zvolily **PCL** a **PUR** tecophilic.

## 9 ZÁVĚR

Polydopamin za 7 let od svého objevu v roce 2007 našel uplatnění jako modifikační materiál mnoha povrchů a to přesto, že přesná struktura polydopaminu zůstává nevyřešena. Jak nanočástice, tak polymery nabyly výhodné vlastnosti včetně zvýšení hydrofilicity, biokompatibility, reaktivity a redukčních vlastností. V této práci bylo ověřeno, že polydopaminovou vrstvu lze úspěšně navázat i na povrch nanovláknenných materiálů.

## 10 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

---

- <sup>1</sup> Chen S., Chen Y., Lei Y., Yin Y.: Novel strategy in enhancing stability and corrosion resistance for hydrophobic functional films on copper surfaces. *Electrochemistry Communications* **11**, str. 1675-1679 (2009)
- <sup>2</sup> Frari D. D., Bour J., Ball V., Toniazzi V., Ruch D.: Degradation of polydopamine coatings by sodium hypochlorite: A process depending on the substrate and the film synthesis method. *Polymer Degradation and Stability* **97**, str. 1884-1849 (2012)
- <sup>3</sup> Chu P.K., Chen J.Y., Wang L.P., Huang N.: Plasma surface modification review. *Materials Science and Engineering* **36**, str. 143-206 (2002)
- <sup>4</sup> Chan C.-M., Ko T.-M.: Polymer surface modification by plasmas and photons. *Surface Science Reports* **24**, str. 1-54 (1996)
- <sup>5</sup> Bernsmann F., Ball V., Addiego F., Ponche A., Michel M., de Almeida Gracio J. J., Toniazzi V., Ruch D.: Dopamine-Melanin Film Deposition Depends on the Used Oxidant and Buffer Solution. *Langmuir* **27**, str. 2819-2825 (2011)
- <sup>6</sup> Ball V., Frari D. D., Toniazzi V., Ruch D.: Kinetics of polydopamine film deposition as a function of pH and dopamine concentration: Insights in the polydopamine deposition mechanism. *Journal of Colloid and Interface Science* **386**, str. 366-372 (2012)
- <sup>7</sup> Lee H., Dellatore S. M., Miller W. M., Messersmith P. B.: *Mussel – Inspired Surface Chemistry for Multifunctional Coatings*. *Science* **318**, str. 426-430 (2007)
- <sup>8</sup> Tang Z., Wang Y., Podsiadlo P., Kotov N. A.: Biomedical applications of layer-by-layer assembly: from biomimetics to tissue engineering. *Advanced Materials* **18**, str. 3203-3224 (2006)
- <sup>9</sup> Sureshkumar M., Siswanto D. Y., Lee Ch.-K.: Magnetic antimicrobial nanocomposite based on bacterial cellulose and silver nanoparticles. *Journal of Material Chemistry* **20**, str. 6948-6955 (2010)
- <sup>10</sup> Qin Z., Buehler M. J.: Molecular mechanics of mussel adhesion proteins. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids* **62**, str. 19-30 (2014)
- <sup>11</sup> Nielsen S. R., Besenbacher F., Chen M.: Mussel inspired surface functionalization of electrospun nanofibers for bio-applications. *Physical Chemistry Chemical Physics* **15**, str. 17029-17037 (2013)
- <sup>12</sup> Zeng R., Luo Z., Zhou D., Cao F., Wang Y.: A novel PEG coating immobilized onto capillary through polydopamine coating for separation of proteins in CE. *Electrophoresis* **31**, str. 3334-3341 (2010)
- <sup>13</sup> Zhu B., Edmondson S.: Polydopamine/melanin initiators for Surface initiated ATRP. *Polymer* **52**, str. 2141-2149 (2011)
- <sup>14</sup> Liu Y., Ai K., Lu L.: Polydopamine and its derivative materials: Synthesis and promising applications in energy, environmental and biomedical fields. *Chemical Reviews* **114**, str. 5057-5115 (2014)
- <sup>15</sup> Gao A., Wang Y.-R., He X.-W., Yin X.-B.: An Electrochemical Hydrogen Peroxide Biosensor Based on Polydopamine-Entrapped G-Quadruplex-Hemin DNAzyme. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* **40**, str. 1471-1476 (2012)

- 
- <sup>16</sup> Dreyer D. R. Miller D. J., Freeman B. D., Paul D. R., Bielawski C. W.: Elucidating the structure of Polydopamine. *Langmuir* **28**, str. 6428-6435 (2012)
- <sup>17</sup> Zhang Y., Thingholm B., Kenneth G. N., Ogaki R., Städler B.: Assembly of Poly(dopamine) Films Mixed with a Nonionic Polymer. **28**, str. 17585-17592 (2012)
- <sup>18</sup> Hong S. Na Y.-S., Choi S., Song I. T., Kim W. Y., Lee H.: Non-Covalent Self-Assembly and Covalent Polymerization Co-Contribute to Polydopamine Formation. *Advanced Functional Materials* **22**, str. 4711-4717 (2012)
- <sup>19</sup> Proks V. Brus J., Pop-Georgievski O., Večerníková E., Wisniewski W., Kotek J., Urbanová M., Rypáček F.: Thermal-Induced Transformation of Polydopamine Structures: An Efficient Route for the Stabilization of the Polydopamine Surfaces. *Macromolecular Chemistry and Physics* **214**, str. 499-507 (2013)
- <sup>20</sup> Wei H., Ren J., Han B., Xu L., Han L., Jia L.: Stability of polydopamine and poly(DOPA) melanin-like films on the surface of polymer membranes under strongly acidic and alkaline conditions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **110**, str. 22-28 (2013)
- <sup>21</sup> Nirasay S. Badia A., Leclair G., Claverie J. P., Marcotte I.: Polydopamine-Supported Lipid Bilayers. *Materials* **5**, str. 2621-2636 (2012)
- <sup>22</sup> Chien H.-W. Kuo W.-H., Wang M.-J., Tsai S.-W., Tsai W.-B.: Tunable Micropatterned Substrates Based on Poly(dopamine) Deposition via Microcontact Printing. *Langmuir* **28**, str. 5775-5782 (2012)
- <sup>23</sup> Niu H. Wang S., Zeng T., Wang Y., Zhang X., Meng Z., Cai Y.: Preparation and characterization of layer-by-layer assembly of thiols/Ag nanoparticles/polydopamine on PET bottles for the enrichment of organic pollutants from water samples. *Journal of Materials Chemistry* **22**, str. 15644-15653 (2012)
- <sup>24</sup> Lee Y. B. Shin Y. M. Lee J. H., Jun I., Kang J. K., Park J. C., Shin H.: Polydopamine-mediated immobilization of multiple bioactive molecules for the development of functional vascular graft materials. *Biomaterials* **33**, str. 8343-8352 (2012)
- <sup>25</sup> Shi L., Guo Z. Self – assembly and tribological properties of a novel organic – inorganic nanocomposite film on silicon using polydopamine as the adhesion layer. *RSC Advances*, **4**, 948-953 (2014)
- <sup>26</sup> Yang H. Lan Y., Zhu W., Li W., Xu D., Cui J., Shen D., Li G.: Polydopamine-coated nanofibrous mats as a versatile platform for producing porous functional membranes. *Journal of Materials Chemistry*, **22**, str. 16994-17001 (2012)
- <sup>27</sup> Shalev T. Gopin A., Bauer M., Stark R. W., Rahimipour S.: Non/leaching antimicrobial surfaces through polydopamine bio/inspired coating of quaternary ammonium salts or an ultrashort antimicrobial lipopeptide. *Journal of Materials Chemistry* **22**, str. 2026-2032 (2012)
- <sup>28</sup> Qi P. Zhang D., Wan Y, Lv D.: A facile approach to construct versatile signal amplification system for bacterial detection. *Talanta* **118**, str. 333-338 (2014)
- <sup>29</sup> Lynge M. E., Westen R. van den, Postma A., Städler B.: Polydopamine – a nature inspired polymer coating for biomedical science. *Nanoscale* **3**, 4916-4928 (2011)
- <sup>30</sup> Ball V., Frari D. D., Michel M., Buehler M. J., Toniazzo V., Singh M. K., Gracio J., Ruch D.: Deposition Mechanism and Properties of Thin Polydopamine Films for High Added

---

Value Applications in Surface Science at the Nanoscale. *Journal of BioNanoScience* **2**, str. 16-34 (2012)

<sup>31</sup> Liebscher J., Mrówczyński R., Scheidt H. A., Filip C., Hädade N. D., Turcu R., Bende A., Beck S.: Structure of polydopamine: A never-ending story? *Langmuir* str. 10539-10548 (2013)

<sup>32</sup> Liu K., Wei W-Z., Zeng J.-X., Liu X.-Y., Gao Y. P.: Application of a novel electrosynthesized polydopamine-imprinted film to the capacitive sensing of nicotine. *Anal Bioanal Chem* **385**, str. 724-729 (2006)

<sup>33</sup> Yu F. et al.: Experimental and theoretical analysis of polymerization reaction process on the polydopamine membranes and its corrosion protection properties for 304 Stainless Steel. *Journal of Molecular Structure* **982**, str. 152-161 (2010)

<sup>34</sup> Bettinger C. J., Bruggerman J. P., Misra A., Borenstein J. T., Langer R.: Biocompatibility of biodegradable semiconducting melanin films for nerve tissue engineering. *Biomaterials* **30**, str. 3050-3057 (2009)

<sup>35</sup> Ye Q., Zhou F., Liu W.: Bioinspired catecholic chemistry for surface modification. *Chem Soc Rev* **40**, str. 4244-4258 (2011)

<sup>36</sup> Li Y., Qin C., Chen C., Fu Y., Ma M., Xie Q.: Highly sensitive phenolic biosensor based on magnetic polydopamine-laccase Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> bionanocomposite. *Sensors and Actuators B: Chemical* **168**, str. 46-53 (2012)

<sup>37</sup> Iqbal Z., Lai E. P.C., Avis T. J.: Antimicrobial effect of polydopamine coating on escherichia coli. *Journal of Materials Chemistry* **22**, str. 21608-21612 (2012)

<sup>38</sup> U.S. National library of Medicine: *ChemIDplus, a toxnet database, Dopamine*. Dostupné z URL: < <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/51-61-6> > [cit. 24.4.2014]

<sup>39</sup> Si J., Yang H.: Preparation and characterization of bio-compatible Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@Polydopamine spheres with core/shell nanostructure. *Materials Chemistry and Physics* **128**, str. 519-524 (2011)

<sup>40</sup> Barek J., Pecková K., Vyskočil V.: Kam směřují moderní elektroanalytické metody 50 let po udělení nobelovy ceny za polarografii. *Chemické Listy* **103**, str. 889 – 893 (2009)

<sup>41</sup> Ingole P. G. et al.: Synthesis, characterization and surface modification of PES hollow fiber membrane support with polydopamine and thin film composite for energy generation. *Chemical Engineering Journal* **243**, str. 137-146 (2014)

<sup>42</sup> Cao C., Tan L., Liu W., Ma J., Lei L.: Polydopamine coated electrospun poly(vinylidene fluoride) nanofibrous membrane as separator for lithium-ion batteries. *Journal of Power sources* **248**, str. 224-229 (2014)

<sup>43</sup> Zheng L. et al.: Bilayer lipid membrane biosensor with enhanced stability for amperometric determination of hydrogen peroxide. *Talanta* **85**, str. 43-48 (2011)

<sup>44</sup> Wang A.-J. et al.: In situ synthesis of polydopamine–Ag hollow microspheres for hydrogen peroxide sensing. *Electrochimica Acta* **61**, str. 31-35 (2012)

<sup>45</sup> Xi F., Zhao D., Wang X., Chen P.: Non-enzymatic detection of hydrogen peroxide using a functionalized three-dimensional graphene electrode. *Electrochemistry Communications* **26**, str. 81-84 (2013)

- 
- <sup>46</sup> Oral health science: *Clinical Trial of Mousse on White Spot Lesions*. Dostupné z URL: <  
[http://www.oralhealthcrc.org.au/sites/default/files/BriefingPaper2\\_OrthodonticTrial\\_Web.pdf](http://www.oralhealthcrc.org.au/sites/default/files/BriefingPaper2_OrthodonticTrial_Web.pdf)  
> [cit. 11.4.2014]
- <sup>47</sup> Jayarajan J, Janardhanam P, Jayakumar P, Deepika. Efficacy of CPP-ACP and CPP-ACPF on enamel remineralization – An in vitro study using scanning electron microscope and DIAGNOdent®. *Indian Journal of Dental Research* **22**, str. 77-82 (2011)
- <sup>48</sup> Kohri M. et al.: A colorless functional polydopamine thin layer as a basis for polymer capsules. *Polymer Chemistry* **4**, str. 2696-2702 (2013)
- <sup>49</sup> Mosinger J., Jirsák O., Kubát P., Lang K., Mosinger B. J.: Bactericidal nanofabrics based on photoproduction of singlet oxygen. *Journal of Materials Chemistry* **17**, str. 164-166 (2007)