



**UNIVERSITATEA BABEȘ-BOLYAI DIN CLUJ-NAPOCA
FACULTATEA DE CHIMIE ȘI INGINERIE CHIMICĂ
DEPARTAMENTUL DE INGINERIE CHIMICĂ**

REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

**NANOSTRUCTURI LIPIDICE ÎN PREZENȚA UNOR
BIOMOLECULE SOLUBILE ÎN APĂ SAU A UNOR
NANOPARTICULE METALICE DE AUR SAU ARGINT**

DOCTORAND

ROXANA-DIANA PAȘCA

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC

PROF. UNIV. DR. MARIA TOMOAI-A-COTIȘEL

2013



**UNIVERSITATEA BABEȘ-BOLYAI DIN CLUJ-NAPOCA
FACULTATEA DE CHIMIE ȘI INGINERIE CHIMICĂ
DEPARTAMENTUL DE INGINERIE CHIMICĂ**

ROXANA-DIANA PAȘCA

**NANOSTRUCTURI LIPIDICE ÎN PREZENȚA UNOR
BIOMOLECULE SOLUBILE ÎN APĂ SAU A UNOR
NANOPARTICULE METALICE DE AUR SAU ARGINT**

REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

Comisia de doctorat:

Președinte:

Prof. Dr. Ing. Mircea Dărăbanțu - Universitatea Babeș-Bolyai, Cluj-Napoca

Conducător științific:

Prof. Dr. Maria Tomoaia-Cotișel- Universitatea Babeș Bolyai, Cluj-Napoca

Referenți:

Prof. Dr. Minodora Leca - Universitatea din București

Prof. Dr. Elena Maria Pică - Universitatea Tehnică, Cluj-Napoca

Prof. Dr. Ossi Horovitz – Universitatea Babeș-Bolyai, Cluj-Napoca

Data susținerii: **20 septembrie 2013**

CUPRINS

INTRODUCERE.....	1
1. MONOSTRATURI ȘI FILME LANGMUIR-BLODGETT.....	3
1.1. Membranele biologice și monostraturile Langmuir.....	3
1.1.1. Sisteme lipidice.....	4
1.1.2. Sisteme proteice.....	5
1.2. Tehnica Langmuir-Blodgett.....	6
1.2.1. Obținerea izotermei de compresie.....	9
1.2.2. Determinarea potențialului superficial.....	13
1.2.3. Transferul filmului de la interfața aer-apă pe suport solid.....	14
1.3. Calcularea unor caracteristici de monostrat.....	16
1.3.1. Modul de compresibilitate superficială.....	16
1.3.2. Energia liberă de amestecare Gibbs.....	17
1.4. Bibliografie.....	18
2. METODE DE INVESTIGARE A SISTEMELOR NANOSTRUCTURATE.....	23
2.1. Metode spectroscopice.....	23
2.1.1. Spectroscopia UV-VIS.....	23
2.1.2. Spectroscopia IR și Raman.....	24
2.2. Măsurători de potențial zeta.....	24
2.3. Metode microscopice.....	25
2.3.1. Microscopia AFM.....	25
2.3.2. Microscopia TEM.....	26
2.4. Bibliografie.....	27
REZULTATE ORIGINALE.....	30
3. NANOSTRUCTURI LIPIDICE MONOCOMPONENTE SAU MIXTE.....	31
3.1. Izoterme de compresie.....	35
3.2. Modulul de compresibilitate superficială.....	37
3.3. Potențialul superficial.....	40
3.4. Momentul de dipol.....	42
3.5. Termodinamica miscibilității în nanostructuri lipidice.....	45
3.6. Nanostructuri lipidice. Imagini AFM.....	50
3.7. Nanostructuri lipidice în prezență de propranolol.....	55
3.8. Nanostructuri lipidice în prezență de collagen.....	60

3.9. Nanostructuri lipidice lipozomale.....	67
3.10. Concluzii.....	69
3.11. Bibliografie.....	71
4. PREPARAREA NANOPARTICULELOR METALICE DE AUR SAU ARGINT.....	81
4.1. Sinteza nanoparticulelor de aur.....	83
4.2. Prepararea nanoparticulelor de argint.....	89
4.3. Caracterizarea nanoparticulelor metalice prin spectroscopie UV-VIS.....	90
4.3.1. Nanoparticule de aur obținute prin sinteză în mediu apos.....	90
4.3.2. Nanoparticule de aur obținute prin sinteză în mediu organic.....	91
4.3.3. Caracterizarea nanoparticulelor de argint.....	92
4.4. Caracterizarea TEM a soluțiilor coloidale de nanoparticule metalice.....	92
4.4.1. Nanoparticule de aur obținute prin sinteză în mediu apos.....	92
4.4.2. Nanoparticule de aur obținute prin sinteză în mediu organic.....	94
4.4.3. Nanoparticule de argint.....	96
4.5. Concluzii.....	97
4.6. Bibliografie.....	97
5. NANOSTRUCTURI LIPIDICE ÎN PREZENȚA UNOR NANOPARTICULE METALICE.....	101
5.1. Auto-asamblarea nanoparticulelor de aur la interfața aer-apă.....	109
5.2. Auto-asamblarea moleculelor de acid stearic în prezența nanoparticulelor de aur.....	110
5.3. Modelarea interacțiunii dintre nanoparticulele de aur și acidul stearic.....	112
5.4. Caracterizarea AFM a nanostructurilor Langmuir-Blodgett formate din nanoparticule de aur și acid stearic.....	115
5.5. Concluzii.....	124
5.6. Bibliografie.....	125
6. NANOPARTICULE METALICE FUNCȚIONALIZATE CU BIOMOLECULE.....	130
6.1. Caracterizarea nanoparticulelor metalice.....	140
6.1.1. Caracterizarea nanoparticulelor de aur.....	140
6.1.2. Caracterizarea nanoparticulelor de argint.....	141
6.2. Interacțiunea nanoparticulelor metalice cu anestezice.....	144
6.2.1. Interacțiunea nanoparticulelor de aur cu anestezice.....	144

6.2.2. Interacțiunea nanoparticulelor de argint cu anestezice.....	148
6.3. Interacțiunea nanoparticulelor de aur cu propranololul.....	152
6.4. Concluzii.....	153
6.5. Bibliografie.....	155
7. BIOSISTEME FORMATE DIN NANOPARTICULE DE AUR ȘI COLAGEN.....	160
7.1. Prepararea nanoparticulelor de aur prin reducere cu β -ciclodextrină.....	164
7.2. Prepararea dispersiilor de colagen.....	164
7.3. Interacțiunea GNP acoperite cu β -CD cu colagenul tip I.....	164
7.4. Concluzii.....	173
7.5. Bibliografie.....	174
8. NANOPARTICULE DE AUR OBȚINUTE PRIN METODE BIOGENICE.....	179
8.1. Caracterizarea extractelor vegetale folosite.....	182
8.2. Prepararea nanoparticulelor de aur	184
8.3. Spectre UV-VIS.....	185
8.4. Vizualizarea nanoparticulelor de aur folosind TEM.....	189
8.5. Distribuția după dimensiuni a nanoparticulelor de aur	193
8.6. Vizualizarea nanoparticulelor de aur prin imagistica AFM.....	195
8.7. Spectre FT-IR.....	198
8.8. Concluzii.....	199
8.9. Bibliografie.....	200
9. CONCLUZII GENERALE.....	206
10. BIBLIOGRAFIE GENERALĂ.....	210
11. PUBLICAȚII ORIGINALE.....	245
Lista figuri.....	251
Lista scheme.....	260
Lista tabele.....	261
Lista abrevieri.....	262

INTRODUCERE

Teza de doctorat are un caracter multidisciplinar și abordează studii din domeniile: Chimia Coloizilor și Interfețelor, Biofizică, Termodinamică și Structură Chimică, cu aplicații în Nanotehnologie și Nanomedicină.

Teza este alcătuită din două părți. Prima parte (Cap. 1 și 2) conține date din literatură: modul de studiu al nanostructurilor lipidice folosind Tehnica Langmuir-Blodgett și alte metode de studiu ale sistemelor nanostructurate: spectroscopia UV-VIS, IR și Raman, măsurători de potențial zeta, microscopia AFM și TEM.

Partea a 2-a (Cap. 3-8) descrie nanostructurile lipidice formate în absența sau în prezență de proteine (colagen) și medicamente (propranolol) folosind microscopia AFM, precum și metodele folosite în prepararea unor nanoparticule de aur (inclusiv folosind chimia verde) și de argint, nanoparticule pentru care s-au studiat în continuare și modelat interacțiunile cu nanostructurile lipidice, cu anestezice (procaină, dibucaină și tetracaină) și propranolol.

Teza de doctorat are un număr de 113 figuri, 25 scheme, 10 tabele, 336 indicații bibliografice, 265 pagini, dintre care: 30 de pagini descriu studiul de literatură din domeniul tezei de doctorat, 170 pagini prezintă rezultatele experimentale originale obținute și 65 pagini reprezintă centralizarea informației cuprinsă în teză (concluzii generale, bibliografie generală ordonată alfabetic, listă figuri, listă scheme, listă abrevieri).

Câteva din elementele de originalitate ale tezei sunt: obținerea nanostructurilor lipidice în prezența unei dispersii de colagen tip I și respectiv a propranololului folosind tehnica Langmuir-Blodgett; obținerea nanoparticulelor de aur folosind unele extracte de plante; obținerea unor nanoparticule de argint stabilizate cu silice și asparagină; studiul interacțiunii dintre nanoparticulele metalice și moleculele de anestezic, cu aplicații biomedicale. Aceste cercetări originale sunt publicate în 8 articole (6 în reviste cotate ISI), au fost prezentate la 4 manifestări științifice din străinătate și la 15 conferințe din țară. O parte din

rezultate au fost obținute în colaborare cu universități din străinătate: Newcastle University, UK (capitolul 3) și Budapest University of Technology and Economics (capitolul 5), pe parcursul a două stagii de cercetare.

CUVINTE CHEIE

1. lipide
2. proteine
3. tehnica Langmuir-Blodgett
4. biomolecule
5. nanoparticule metalice

1. MONOSTRATURI ȘI FILME LANGMUIR - BLODGETT

Membranele biologice sunt formațiuni de natură lipo-proteică, care delimitează celulele de mediul exterior [1-3]. Monostraturile Langmuir (filmele insolubile) permit investigarea lipidelor orientate [4] la interfața aer/lichid și a interacțiunii dintre proteinele solubile și lipidele etalate [5], motiv pentru care sunt considerate modele membranare.

Lipidele se pot împărți în 3 clase principale: lipide simple (de ex. colesterolul), lipide complexe (ex. glicerofosfolipidele) și alte lipide [3]. Datorită prezenței în structura lipidelor atât a unor grupări hidrofile, cât și a unor grupări hidrofobe, acestea au proprietatea de a se orienta la interfața aer-apă.

Proteinele pot fi împărțite în două mari grupe: proteine globulare și proteine fibrilare, între care colagenul [3].

Tehnica de depunere a monostraturilor de la interfața aer-apă pe suport solid poartă numele de tehnica Langmuir-Blodgett. S-a folosit sistemul KSV 5000 la studiul filmelor superficiale și anume: la obținerea monostraturilor insolubile Langmuir și la transferul acestora de la interfața aer-apă pe suport solid, prin tehnica Langmuir-Blodgett. Cu ajutorul acestuia se pot realiza mai multe tipuri de experimente:

- ◆ Determinarea presiunii superficiale în funcție de aria per moleculă, obținerea izotermei de compresie (π -A);
- ◆ Măsurarea potențialului superficial în funcție de aria moleculară, realizarea izotermei de potențial superficial (ΔV -A);
- ◆ Depunerea de monostraturi și de multistraturi pe diverse suporturi solide, hidrofile sau hidrofobe, la presiuni superficiale cunoscute și constante.

Tehnica Langmuir-Blodgett permite un control precis al grosimii monostratului și o depunere omogenă a monostratului pe o arie relativ mare, din acest motiv filmele Langmuir-Blodgett pot fi folosite cu succes pentru

studiul proprietăților membranelor biologice naturale și pentru construirea de biosenzori având o sensibilitate și o viteză de răspuns crescută [6]. Suporturile solide pot fi apoi analizate folosind diverse metode de investigare, prezentate în Cap. 2.

Izoterma de compresie, reprezentarea presiunii superficiale în funcție de aria per moleculă, oferă informații referitoare atât la mărimea și forma moleculelor din monostrat, cât și la energetica interacțiunilor dintre aceste molecule [7]. Pentru a obține filme insolubile Langmuir, substanța de determinat se dizolvă într-un solvent volatil (benzen, hexan, toluen, cloroform) și se etalează la interfață. Se așteaptă apoi evaporarea solventului (Fig. 1.4). După un interval de 10-15 minute începe comprimarea filmului de la interfață folosind barierele comprimatoare și se înregistrează valoarea presiunii superficiale [8]. Din reprezentarea presiunii superficiale în funcție de aria per moleculă se obține izoterma de compresie. Sistemul KSV 5000 folosește metoda plăcuței Wilhelmy pentru determinarea tensiunii superficiale și calculează automat presiunea superficială.

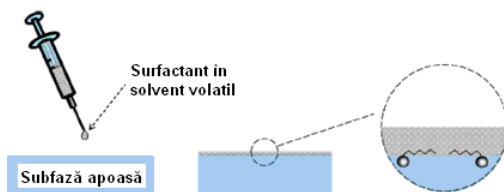


Figura 1.4 Obținerea monostraturilor insolubile Langmuir [8]

Odată cu creșterea concentrației de molecule la interfață (distanța dintre bariere, respectiv aria cuvei scade) monostratul trece dintr-o stare foarte diluată ‘gazoasă’ (G), unde moleculele se află la distanțe mari una față de alta și presiunea superficială are o valoare scăzută, la o stare ‘lichidă’. În general, pot fi diferențiate două stări de lichid: o stare de ‘lichid expandat’ (LE) și o stare de ‘lichid condensat’ (LC), care depind de orientarea moleculelor de surfactant (Fig. 1.5 B). Din starea de lichid condensat, monostratul trece ușor în starea de

‘solid’ (S), printr-o reducere suplimentară a ariei. În această stare, toate moleculele amfifile sunt strâns împachetate și cozile lor hidrofobe sunt aliniate paralel. Printr-o comprimare suplimentară a monostratului are loc colapsul în monostrat (moleculele formează micle, sau multistraturi, în cazul fosfolipidelor, de exemplu), ceea ce duce la apariția unui palier orizontal în izotermă (Fig. 1.5 B). După cum se observă în Fig. 1.5 A, tranziția dintre aceste faze nu este întotdeauna distinctă.

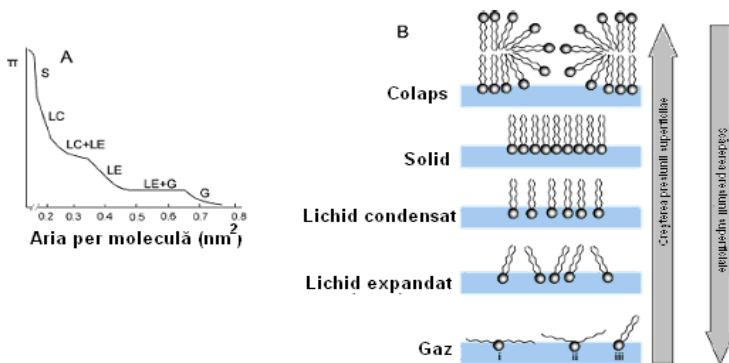


Figura 1.5 A. Reprezentarea schematică a izotermei Π -A, incluzând diferitele stări de agregare ale filmului care pot să apară: G-gaz; LE-lichid expandat; LC-lichid condensat; S-solid. Curbele de acest tip sunt specifice pentru lipide. B. Reprezentarea schematică a modului de împachetare a lipidelor la interfața aer-apă, adaptat după [8].

Potențialul superficial ΔV la nivelul interfeței aer/apă se măsoară cu aparatul KSV 5000 prin metoda plăcii vibrante.

Există un număr mare de modalități de a transfera filmul de la interfață pe suport solid la presiune superficială constantă, dintre care tehnica Langmuir-Blodgett (transfer pe verticală, vezi Fig. 1.7) și tehnica Langmuir-Schafer (transfer pe orizontală) sunt cele mai uzuale [9].

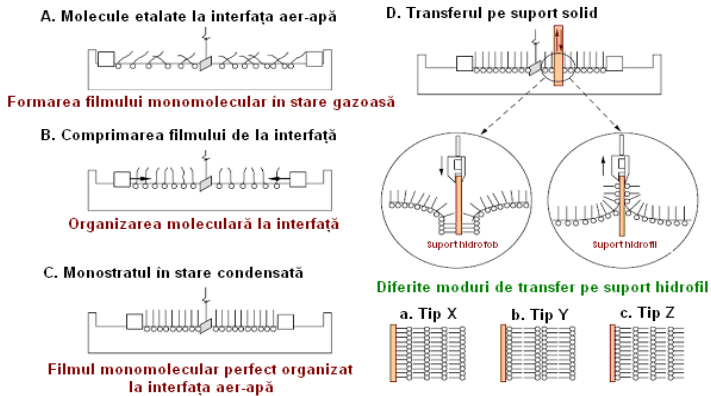


Figura 1.7 Principiul Tehnicii Langmuir-Blodgett [10]

Din măsurile măsurate se pot calcula caracteristici ale monostratului, între care:

- ◆ Modulul de compresibilitate superficială (C_s), o măsură a elasticității interfaciale și o caracteristică pentru variațiile de stare ale monostraturilor
- ◆ Energia liberă de amestecare Gibbs (ΔG_m^E), care caracterizează stabilitatea termodinamică a monostraturilor mixte (policomente).

2. METODE DE INVESTIGARE A SISTEMELOR NANOSTRUCTURATE

Metodele de investigare prezentate în acest capitol sunt: metode spectroscopice (spectroscopia UV-VIS, IR și Raman), măsurători de potențial zeta și metode microscopice (microscopia AFM și TEM).

Pentru determinarea spectrului de absorbție UV-VIS al soluțiilor s-a folosit un spectrofotometru Jasco UV/VIS V-650 care măsoară în intervalul lungimilor de undă 190-900 nm. Soluțiile de nanoparticule metalice prezintă absorbții caracteristice în acest domeniu datorate rezonanței plasmonilor de suprafață.

Potențialul zeta caracterizează stabilitatea sistemelor coloidale: se consideră că un astfel de sistem (inclusiv format din nanoparticule metalice) este stabil dacă potențialul este $> +30$ mV sau < -30 mV [11]. Potențialul zeta a fost măsurat cu aparatul Zetasizer Nano ZS90, produs de către Malvern.

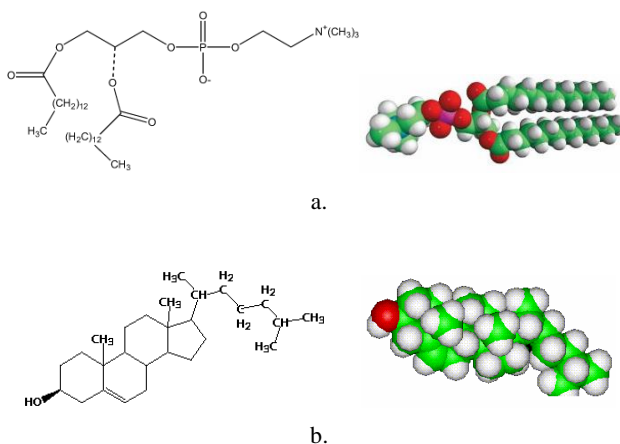
În măsurătorile de microscopie de forță atomică (AFM) s-a folosit aparatul AFM JEOL 4210, cu un vârf din nitrură de siliciu, și cantilever - o bară de siliciu foarte subțire și elastică care are rolul de a suporta interacțiunea dintre tip și probă pe parcursul investigării AFM [12].

Microscopia TEM poate fi utilizată cu succes în studiul nanoparticulelor metalice (aur și argint) pentru a determina forma și dimensiunea particulelor [13].

Pentru microscopia electronică de transmisie TEM s-a folosit aparatul JEOL – JEM 1010.

3. NANOSTRUCTURI LIPIDICE MONOCOMPONENTE SAU MIXTE

În acest studiu, am ales dimiristoil fosfatidilcolina (DMPC) și colesterolul (CHO) pentru a fi investigate la interfața aer-apă, fiind considerate modele membranare (Schema 3.1), pentru a înțelege mai bine comportamentul lor superficial în filme mixte sau în prezența unor biomolecule solubile în apă. Amestecul format din CHO și fosfolipide (de ex. DMPC) duce la sisteme structurate, potrivite pentru a modela organizarea membrana și proprietățile sale.



Schema 3.1. Structurile chimice pentru DMPC (a) și colesterol (b), adaptat după [14]

Astfel, s-au investigat monostraturile de CHO și DMPC pur și amestecul lor, atât ca monostrat Langmuir la interfața aer/apă, cât și drept film Langmuir-Blodgett transferat pe suport solid [15]. Scopul principal a fost de a determina rolul grupărilor polare din molecula de DMPC asupra comportamentului amestecului DMPC și CHO la interfața aer/apă, folosind măsurători de potențial superficial cuplate cu măsurători de presiune

superficială. De asemenea s-a urmărit influența pe care o au anumite proteine (colagenul) și medicamente (propranololul) asupra filmelor de DMPC pure, respectiv mixte, formate din DMPC și colesterol, prin măsurarea izotermelor de compresie și prin realizarea de imagini AFM. S-a urmărit și influența pe care o au acizii grași, acidul stearic, asupra subfazei care conține colagen.

Izotermele de compresie determinate pentru DMPC, colesterol și amestecul lor în diferite rapoarte de amestecare sunt reprezentate în Fig. 3.1. Toate izotermele sunt deplasate spre stânga (arii per moleculă mai mici) odată cu creșterea x_{CHO} , adică se manifestă un efect de condensare al colesterolului.

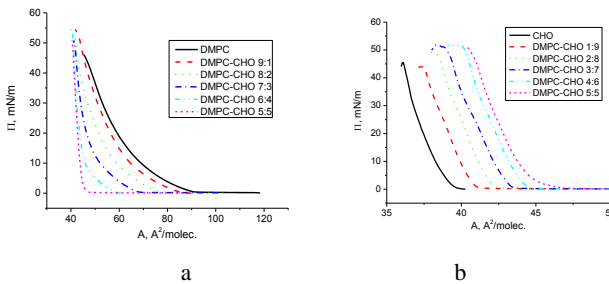


Figura 3.1. Izotermele de compresie pentru DMPC și amestecurile DMPC-CHO cu $x_{\text{CHO}} \leq 0,5$ (a), și pentru CHO și amestecurile DMPC-CHO cu $x_{\text{CHO}} \geq 0,5$ (b)

Diferențele în presiunea de colaps pentru diferite monostratificări se pot de asemenea vedea din aceste izoterme. Pentru DMPC și CHO pur, valorile sunt mai mici (aprox 46 mN/m pentru DMPC, respectiv 42 mN/m pentru CHO), decât pentru amestecurile lor.

O dovadă a efectului de condensare al colesterolului în monostratificările mixte este dat de reprezentarea ariei per moleculă, A , în funcție de compoziția amestecului, x_{CHO} , la valori constante ale presiunii superficiale, π . Asemenea *izobare* sunt date în Fig. 3.2 pentru valori ale lui π cuprinse între 5 și 40 mN/m. Acest efect de condensare, adică abateri negative de la regula amestecurilor,

reprezentate printr-o line dreaptă care conectează punctele pentru componenții puri, este mai este pronunțat pentru valori mici ale presiunii superficiale și este menținut și la presiuni superficiale înalte. Acest efect de condensare al colesterolului, și în consecință gradul înalt de împachetare al monostraturilor mixte DMPC-CHO, poate fi datorat forțelor de atracție van der Waals și legăturilor de hidrogen dintre fosfolipide și colesterol, stabilizând structurile mixte [16-19].

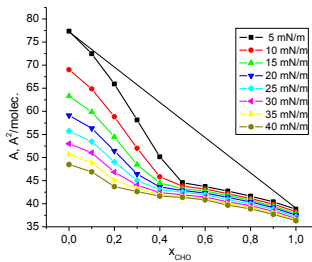


Figura 3.2. Aria per moleculă vs. fracții molare în colesterol pentru amestecul DMPC-CHO la valori ale presiunii superficiale date în chenar

Modulul de compresibilitate superficială C_s^{-1} a fost calculat din izotermele de compresie $\pi = f(A)_T$ din Fig. 3.1, prin derivare grafică. Valorile sale cresc semnificativ cu creșterea presiunii superficiale, și ating un maxim pentru presiunea superficială corespunzătoare unui grad înalt de împachetare a monostraturilor înainte de colaps. DMPC și amestecurile DMPC-CHO pentru $x_{CHO} \leq 0,2$ prezintă cele mai scăzute valori iar colesterolul (cel puțin pentru valori mari ale lui π) cele mai ridicate valori C_s^{-1} pentru aceeași presiune superficială, în timp ce monostraturile mixte prezintă valori intermediare. Pentru fracții molare în colesterol mai mici de 0,5 diferențele dintre amestecurile mixte și colesterolul pur sunt diminuate.

Modulul C_s^{-1} este considerat un indicator pentru starea de agregare a filmului monomolecular [20]. Când aceste valori sunt mai mari de 100 mN/m, filmul se găsește în starea de lichid-condensat (LC), iar valorile mai mari de

250 mN/m sugerează prezența stării de solid, care implică un grad ridicat de împachetare a lanțurilor hidrocarbonate [14]. Aplicând acest criteriu, toate amestecurile DMPC-CHO pot trece prin compresie în starea de LC, și chiar în starea de solid, pentru diverse compoziții cu un conținut ridicat de colesterol ($x_{\text{CHO}} \geq 0,4$).

O reprezentare a presiunii superficiale de colaps în funcție de conținutul în colesterol al amestecului DMPC-CHO (Fig. 3.5) prezintă un maxim pentru fracțiile molare în colesterol cuprinse între 0,4 și 0,5, acesta fiind cel mai stabil monostrat pentru aceste compoziții [21-23].

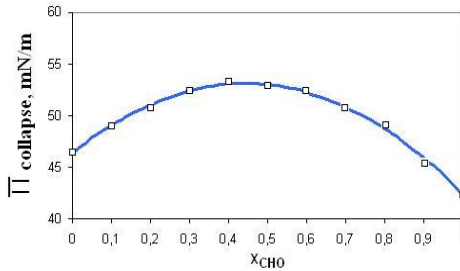


Figura 3.5. Presiunea superficială de colaps *versus* conținutul în colesterol în amestecurile binare DMPC-CHO

Valorile *potențialului superficial*, ΔV , măsurat la diverse presiuni superficiale, π , pentru DMPC și CHO pur și pentru amestecurile lor, au fost reprezentate în funcție de aria per moleculă, A , în Fig. 3.6. La aceeași valoare A , DMPC pur prezintă cea mai mare valoare a potențialului și colesterolul pur cea mai mică (Fig. 3.6). Evident, potențialul superficial crește cu scăderea ariei per moleculă, adică cu creșterea presiunii superficiale. Pentru amestecurile formate din DMPC și CHO, potențialul superficial crește cu creșterea conținutului în DMPC (x_{DMPC}).

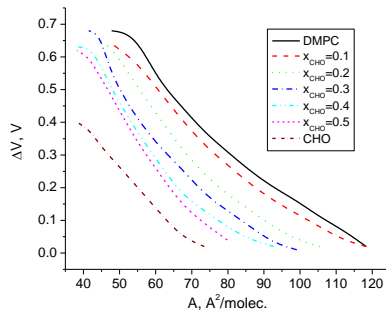


Figura 3.6. Izoterme reprezentative pentru potențialul superficial, ΔV , versus aria per moleculă, A , pentru DMPC și CHO și pentru amestecul lor, la diferite fracții molare în colesterol, x_{CHO} , date în chenar.

Aceste tendințe sunt mai vizibile în reprezentarea grafică a potențialului superficial în funcție de fracția molară în colesterol, x_{CHO} , la presiuni superficiale laterale constante (izobare), prezentate în Fig. 3.7, pentru DMPC și CHO pur și pentru amestecurile lor.

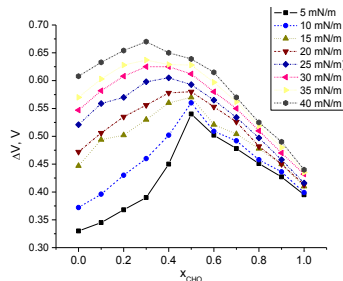


Figura 3.7. Potențialul superficial, ΔV , pentru DMPC, colesterol și amestecurile DMPC-CHO în funcție de fracțiile molare în colesterol (x_{CHO}), la o presiune superficială laterală constantă (dată în chenar).

Potențialul superficial crește cu creșterea x_{CHO} , dar după atingerea valorii maxime el scade înspre valorile colesterolului pur. Valoarea maximă este atinsă pentru amestecul DMPC:CHO 1:1 la presiuni superficiale scăzute,

dar se deplasează spre amestecuri cu un conținut mai mic de CHO la presiuni superficiale înalte. Lipsa de liniaritate în variația potențialului superficial cu conținutul în colesterol în amestecurile DMPC și CHO ar putea fi o consecință a formării unor domenii locale, după cum se sugerează pentru un amestec similar format din fosfolipide și acidul usnic [24].

Componenta *momentului de dipol molecular* pe direcție verticală a monostratului, notată cu μ_v , a fost estimată pornind de la curbele de potențial superficial, ΔV versus $1/A$, pentru DMPC și CHO și pentru amestecurile DMPC-CHO cu o fracție molară în colesterol de până la 0,5 [25]. Valorile μ_v cresc inițial pentru toate monostraturile cu scăderea valorilor lui A (Fig. 3.8), arătând trecerea de la starea de lichid expandat (LE) la starea de lichid condensat (LC) [15]. Pentru monostratul de DMPC, aceasta corespunde unei modificări în orientarea grupării polare a moleculelor de DMPC la interfața apă/aer de la un aranjament orizontal (grupările polare orientate paralel cu interfața apă/aer) la unul vertical (grupările polare orientate perpendicular pe interfața apă/aer).

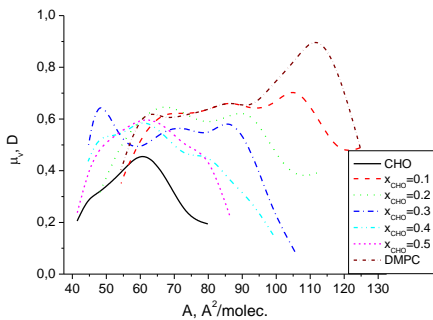


Figura 3.8. Dipolmomentul perpendicular pe monostrat, μ_v , în funcție de aria per moleculă, pentru DMPC și CHO pur și pentru amestecul lor. Simbolurile sunt date în chenar.

Valorilor μ_v găsite se pot discuta pornind de la două modele propuse anterior [26] pentru conformația fosfatidilcolinei (Fig. 3.9a și 3.9b), ambele

conformații fiind perpendiculare pe interfața aer-apă. Notațiile a_h și b_h reprezintă lungimea și respectiv lățimea secțiunii transversale a grupării polare, în timp ce c_w reprezintă înălțimea părții polare a moleculei de DMPC, care este ancorată în faza apoasă. Pentru monostratul de DMPC pur, se observă un maxim în reprezentarea μ_v versus A (Fig. 3.8) și acesta ar putea corespunde predominării conformației întinse a grupării polare a DMPC (Fig. 3.9), în interiorul monostratului. După maxim, valorile μ_v scad spre un palier aparent. Valorile mai mici ale lui μ_v sugerează faptul că ar fi preferată conformația de sare internă (Fig. 3.9b) în monostrat. Acest lucru este în acord cu valorile dipolmomentului μ_v pentru conformația întinsă a (Fig. 3.9a) care este mai voluminoasă decât conformația b (Fig. 3.9b).

Pentru amestecurile DMPC and CHO, aspectul curbelor μ_v versus A este similar, dar curbele sunt deplasate spre valori mai mici ale lui A (Fig. 3.8). Ele sugerează faptul că tot conformația (b) a fosfatidilcolinei ar fi favorizată în monostraturile mixte de DMPC și CHO.

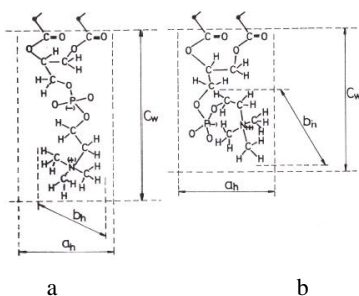
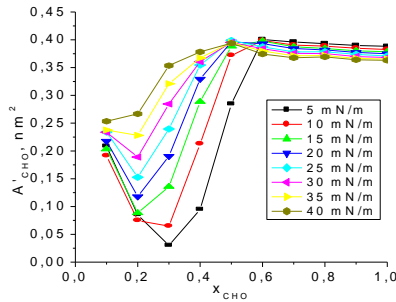


Figura 3.9. Modele pentru molecula de DMPC, pentru cele două conformații ale fosfatidilcolinei [26], întinsă (a) și de sare internă (b), ambele orientate perpendicular pe interfața aer/apă. $(\mu_v)_a > (\mu_v)_b$. Simbolurile se regăsesc în text.

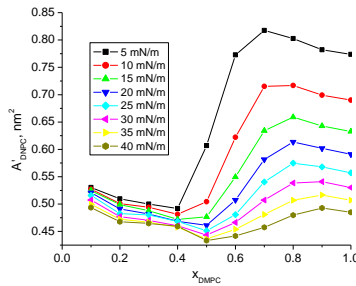
Pentru a analiza interacțiunile dintre doi componenți în filme mixte, este utilă investigarea variației ariei moleculare medii și a excesului de energie liberă de suprafață cu compoziția sistemului. A fost amintit efectul de condensare al colesterolului în monostraturi mixte asupra arie moleculare medii

(Fig. 3.2) O imagine mai clară a acestui efect este dată de reprezentarea ariilor moleculare parțiale \bar{A}_i pentru colesterol (3.10a) și DMPC (3.10 b) și în filme mixte, pentru diferite presiuni superficiale laterale [27, 28]. Efectul presiunii și al compoziției asupra ariilor moleculare parțiale este pronunțat în amestecurile cu un conținut scăzut de colesterol (până la $x_{\text{CHO}} = 0,4$).

Un alt indicator al interacțiunilor dintre componentii sistemului, și de asemenea a stabilității termodinamice a filmelor mixte este energia de amestecare de exces în suprafață Gibbs, ΔG_m^E [29, 30], practic dată de entalpia de amestecare de exces. Din reprezentările experimentale ale ariei per moleculă minus aria ideală în funcție de presiune, am obținut prin integrare energia liberă de amestecare de exces Gibbs per moleculă; din aceste valori s-au calculat cantitățile molare corespunzătoare [31, 32].



a.



b.

Figura 3.10. Ariile moleculare parțiale pentru colesterol (a) și DMPC (b) în funcție de fracția molară pentru presiunile superficiale laterale date în chenar

Ele au fost reprezentate în funcție de valorile π în Fig. 3.11 și de fracția molară în colesterol din film, la o presiune constantă (izobară), în Fig. 3.12.

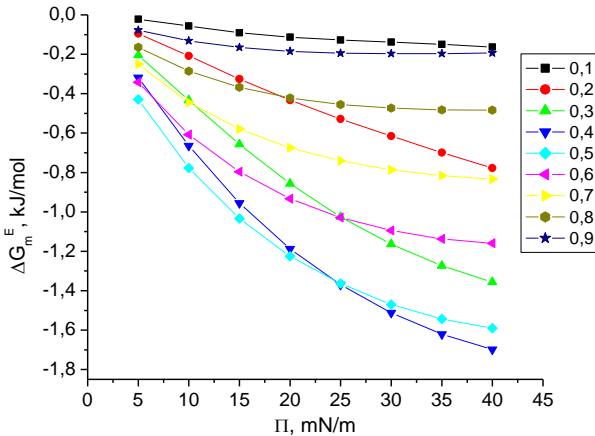


Figura 3.11 Energia liberă de amestecare de exces Gibbs, ΔG_m^E , în funcție de presiunea superficială laterală, π , pentru diferite compoziții ale filmelor mixte

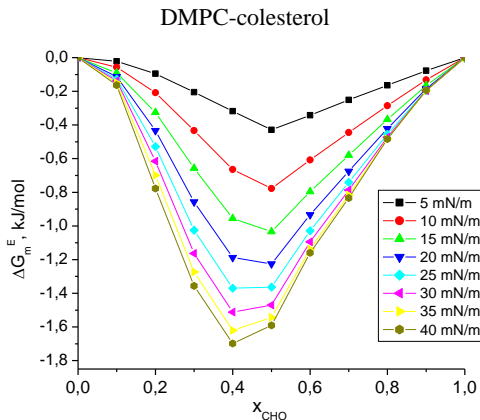


Figura 3.12 Energia liberă de amestecare de exces Gibbs, ΔG_m^E în funcție de fracția molară în colesterol la presiunile superficiale date în chenar.

Toate valorile ΔG_m^E calculate (și astfel valorile entalpiei de amestecare, ΔH_m) sunt negative, indicând faptul că există forțe de atracție intermoleculară între componentii filmelor mixte, și de aceea amestecarea DMPC cu colesterol este favorizată. Maximul de stabilitate a filmelor mixte apare aproape de raportul echimolar a DMPC și colesterol ($x_{\text{CHO}} = 0,5$ pentru presiuni superficiale scăzute și 0,4 pentru presiuni laterale mai mari).

Observațiile AFM au fost folosite pentru a completa informațiile avute despre DMPC, CHO și amestecurile DMPC-CHO aproape de presiune de colaps, transferate pe suprafață de sticlă [33-35]. Ca exemplu prezentăm imagini pentru filmul mixt DMPC-COL ($x_{\text{CHO}}=0,5$) în Fig. 3.18.

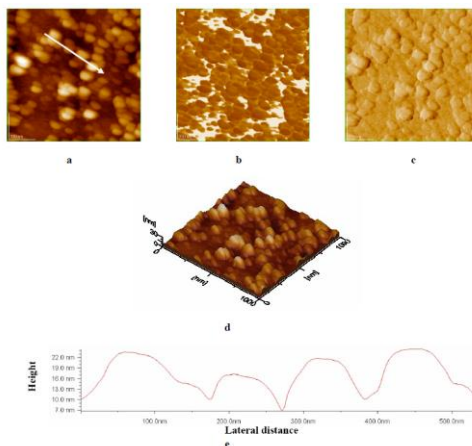


Figura 3.18. Imagini AFM pentru filmele mixte DMPC:CHO ($x_{\text{CHO}}=0,5$) depuse pe sticlă optică la $\pi = 10$ mN/m. Aria scanată $1 \mu\text{m} \times 1 \mu\text{m}$. a) imagine topografică 2D; b) imagine de fază; c) imagine de amplitudine; d) imagine topografică 3D; e) secțiune transversală de-a lungul săgeții.

Interacțiunea dintre lipide și medicamente a fost intens studiată în literatură [36-54], dar este pentru prima dată când a fost studiată interacțiunea dintre DMPC, CHO și amestecul lor în diferite rapoarte de amestecare (1:1, 7:3, 3:7) cu un medicament antihipertensiv, *propranolol*, folosind LBT și AFM, pentru a compara comportamentul lipidelor în prezența medicamentului dizolvat în subfază, cu comportamentul acestora pe subfaza de apă ultrapură, prezentată mai sus. S-au înregistrat izotermele de compresie pentru diferite concentrații de propranolol în faza apoasă; ele evidențiază interacțiunea filmelor de lipide cu subfaza conținând propranolol. Si în acest caz s-a utilizat imagistica AFM, care relevă influența propranololului: acesta “adună” moleculele lipidice și duce la formarea unor structuri sferice.

Interacțiunea dintre lipide și proteine este prezentată de multe ori în literatură [55-67], dar este pentru prima dată când a fost studiată interacțiunea dintre DMPC, CHO și acid stearic, AS (cu rol comparativ) cu dispersia de *colagen* de tip I din tendonul lui Ahile de bovină folosind LBT și AFM, cu scopul de a modela interacțiunile lipo-proteice care apar în membrana biologică [68-70]. Colagenul de tip I a fost dizolvat în soluție de acid acetic 1% (0,167 M) la temperatura de 4 °C și apoi a fost ultrasonat timp de 30 de minute, astfel s-a obținut o dispersie apoasă acidă de concentrația dorită (1 g/L, pH ≈ 3). Fibra de colagen poate fi observată prin AFM, în Fig. 3.28.

S-au comparat izotermele de compresie pentru filme de DMPC, COL, dar și AS etalate pe subfază de apă ultrapură cu cele obținute pe o subfază apoasă conținând colagen în diferite concentrații. În toate cazurile se observă o expansiune a filmelor în prezența colagenului. Presiunea de colaps a filmelor se menține, în schimb, la aceleași valori ca și pe subfază apoasă. Nanostructurile lipidice formate în prezența colagenului au fost analizate și folosind AFM.

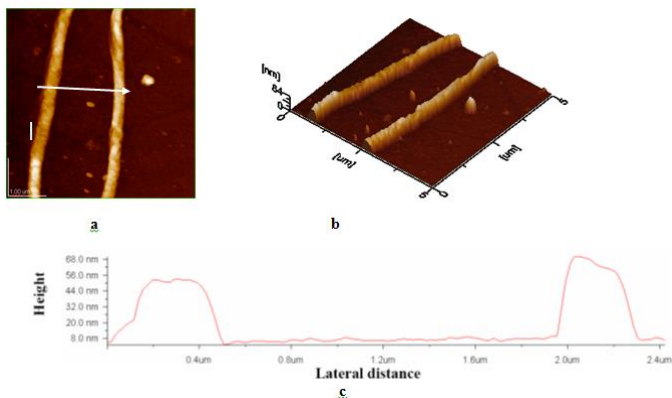


Figura 3.28. Imagini AFM pentru fibra de collagen tip I pe subfază de NaCl 2N, depus pe suport de sticlă la $\pi = 30 \text{ mN/m}$. Aria scanată $5 \mu\text{m} \times 5 \mu\text{m}$. a) Imagine topografică 2D; b) Imagine topografică 3D c) profilul secțiunii transversale

În cursul unui stagiu de cercetare la Newcastle University, UK, am studiat și nanostructurile lipidice lipozomale care apar între DPPC și DOPC, caracterizate prin formarea de vezicule unilamelare [71-77]. Acestea sunt evidente în imaginile AFM obținute.

4. PREPARAREA NANOPARTICULELOR METALICE DE AUR SAU ARGINT

Nanoparticulele de aur au fost obținute prin două metode diferite de preparare: reducerea cu citrat în mediu apos [78] și reducerea cu tetrahidroborat în mediu organic (toluen), în prezență de bromură de cetiltrimetilamoniu ca stabilizator [79]. Nanoparticulele de aur preparate prin reducerea cu citrat în mediu apos au avut patru dimensiuni medii ale particulelor: 30 nm, 20 nm, 10 nm și respectiv 5 nm. În acest scop s-a lucrat cu disulfitoaurat (I) de sodiu $\text{Na}_3\text{Au}(\text{SO}_3)_2$ (particule de 30 nm) și cu HAuCl_4 (în celelalte cazuri). Pentru a obține particule mai mici (10 și 5 nm) s-a adăugat acid tanic [80].

Nanoparticulele de argint au fost obținute prin reducerea azotatului de argint cu glucoză în mediu alcalin, în prezență de tetraetilortosilicat (TEOS), ca sursă de SiO_2 (stabilizator) și asparagină.

Nanoparticulele obținute au fost caracterizate prin spectroscopie UV-VIS. Banda caracteristică de absorbție datorată rezonanței plasmonice de suprafață pentru nanoparticulele de aur (sol de culoare roșie) are maximumul între 516 și 529 nm, în funcție de dimensiunea nanoparticulelor, iar pentru cele de argint (sol galben) la 414 nm.

Imaginile TEM redau formele acestor nanoparticule de aur (Fig. 4.4) și de argint și permit să se evalueze dimensiunea lor medie și repartiția dimensiunilor (de ex, histograma din Fig. 4.5).

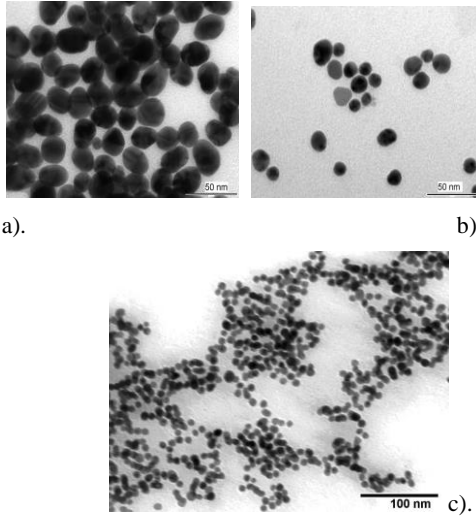


Figura 4.4. Imagine TEM ale nanoparticulelor de aur cu dimensiunea medie de: 30 nm (a), 20 nm (b) și 10 nm (c)

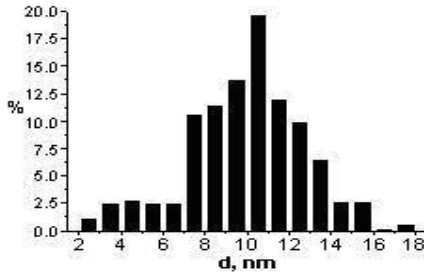


Figura 4.5. Histograma distribuției după mărime a nanoparticulelor de aur cu dimensiunea medie de 10 nm

5. NANOSTRUCTURI LIPIDICE ÎN PREZENȚA UNOR NANOPARTICULE METALICE

Tehnica Langmuir-Blodgett (LBT) s-a dovedit a fi potrivită pentru obținerea de rețele care conțin nanoparticule de aur sau argint prin auto-asamblarea acestora pe suprafața apei [81-85]. Am investigat asamblarea nanoparticulelor de aur de diferite dimensiuni la interfața aer/apă folosind tehnica LB [86-87]

Soluțiile apoase coloidale ale nanoparticulelor de aur de dimensiune medie 10, 20, și 30 nm, obținute așa cum s-a descris în capitolul anterior, au fost centrifugate, la 10.000 rpm timp de 30 min. Apoi nanoparticulele au fost separate de supernatant, spălate cu apă ultrapură și centrifugate din nou. Această operațiune a fost repetată de 5 ori și a avut drept scop îndepărtarea surfactanților care proveneau din faza de sinteză a nanoparticulelor de aur și care ar fi putut afecta rezultatele ulterioare, în special determinarea presiunii superficiale și obținerea izotermei de compresie.

Solul concentrat, prin centrifugare, care conținea nanoparticulele, a fost amestecat cu solvenți organici (cloroform, hexan, toluen) și etalat la interfața aer-apă. După etalarea GNP, amestecat în cloroform, la interfața aer-apă, straturile de GNP obținute au fost comprimate și au fost obținute izotermele de compresie ale straturilor formate din GNP de diametrul 30 nm, 20 nm și 10 nm prezentate în Fig. 5.6.

La o presiune laterală în filmul de GNP aleasă și menținută constantă (aproximativ 10 mN/m, 15 mN/m sau 18 mN/m), straturile de GNP (diametru GNP de 30 nm, diametru GNP de 20 nm) au fost transferate de la interfața aer-apă pe diverse suporturi solide, și anume sticlă șlefuită optic, sticlă funcționalizată (silanizată) și sticlă încărcată pozitiv, sau mică, siliciu, în transfer LB orizontal (Metoda Pull sau Push) sau transfer LB vertical. Aceste straturi au fost cercetate prin AFM, în modul de operare intermitent.

Observațiile AFM au indicat o structurare (aranjare) spontană, ordonată a GNP strâns împachetată prin auto-organizarea GNP la interfața aer/apă.

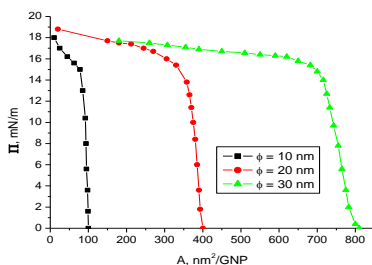


Figura 5.6. Izotermele de compresie [presiune superficială (mN/m) în funcție de aria nanoparticulei (nm²/nanoparticulă)] corespunzătoare filmelor de nanoparticule de aur (GNP), de diametru de 10, 20 sau 30 nm, etalate la interfața aer/apă.

S-a studiat apoi influența funcționalizării acestor filme cu acid stearic. Etalarea filmului de acid stearic pe filmul de GNP, comprimat inițial la o anumită presiune laterală, interacțiunea acidului stearic cu GNP și funcționalizarea parțială a GNP cu acid stearic la interfața aer/apă; comprimarea filmului compozit la anumite presiuni superficiale controlabile și transferul lui utilizând tehnica LB pe diverse suporturi solide, urmat de studiul AFM.

Pentru etalarea acidului stearic pe filmul de GNP, inițial etalat și comprimat la interfața aer/apă, până la presiuni superficiale de aproximativ 10 mN/m s-au folosit doi solvenți organici diferiți, benzenul sau hexanul precum și amestecul lor. Izotermele de compresie (Fig. 5.7) ale filmelor compozite (GNP-acid stearic) arată o ușoară expandare a filmului de acid stearic în prezența de GNP. Expandarea este cu atât mai mare cu cât GNP are diametru mai mare. Interacțiunea dintre acidul stearic și GNP se traduce și în valorile presiunii de colaps mai ridicate pentru filmul compozit (aproximativ 55 mN/m)

față de filmul de acid stearic pur (Fig. 5.7.), presiunea de colaps fiind între 44 și 50 mN/m.

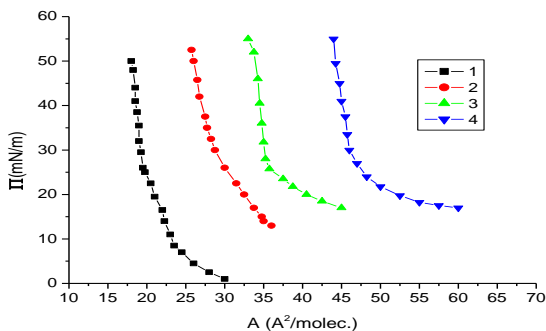


Figura 5.7. Izotermele de compresie [presiune superficială (mN/m) în funcție de aria moleculei de acid stearic ($\text{\AA}^2/\text{moleculă}$)] corespunzătoare filmelor compozite alcătuite din nanoparticule de aur (GNP) și acid stearic, etalate la interfața aer/apă. Curba (1): Acid stearic pur; Acid stearic și nanoparticule de GNP de diverse diametre: 10nm (Curba 2); 20nm (Curba 3) și 30 nm (Curba 4)

Imaginile AFM obținute pentru filmele de GNP în lipsa și în prezența acidului stearic, prin transfer la presiune laterală determinată pe diferite suporturi solide, evidențiază un aranjament ordonat al nanoparticulelor, format prin autoasamblare la interfața aer-apă și menținut în timpul transferului pe suport solid. Aspectul filmului este influențat de dimensiunea nanoparticulelor, de presiunea laterală la care s-a efectuat transferul și de natura suportului

Straturile de GNP stabilizat cu acid stearic formează de asemenea aranjamente ordonate – în domenii de împachetare compactă – prin autoasamblare la interfețe fluide. Imaginile AFM (de ex. Fig. 5.20) evidențiază o structurare avansată atât în cazul monostraturilor hibride cât și în cazul multistraturilor de film compozit. Rugozitatea și morfologia filmului compozit arată formarea unor domenii largi de împachetare compactă. Cifra de transfer pentru polistraturi crește odată cu numărul de straturi și se apropie de 1. Astfel,

putem considera că se pot transfera multistraturi de film compozit unde se păstrează ordinea de împachetare existentă în filmul compozit de la interfața aer/apă [86-87].

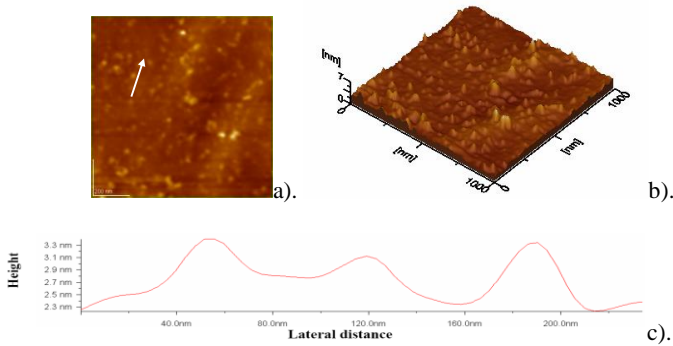


Figura 5.20. Imagini AFM ale GNP (20 nm) în acid stearic, transferat pe siliciu (2 straturi). Aria scanată: $1 \times 1 \mu\text{m}^2$. a) Imagine topografică 2D; b) Imagine topografică 3D; c) Secțiune transversală prin film în Fig. 5.20.a) Probe LBT realizate prin transfer orizontal; Metoda Push; Presiune superficială $\pi = 15 \text{ mN/m}$.

Asamblarea de GNP la interfața aer-apă prin funcționalizarea parțială a GNP cu acid stearic și apoi prin transferul de monostrat compozit sau de film compozit multistrat pe suprafețe solide prezintă potențiale aplicații fiind totodată unități de construcție (building blocks) pentru elaborarea de noi materiale nanostructurate cu o arhitectură controlabilă la nivel nano.

6. NANOPARTICULE METALICE FUNCȚIONALIZATE CU BIOMOLECULE

Nanoparticulele metalice, în particular nanoparticulele de metale nobile, se află în centrul cercetărilor interdisciplinare referitoare la nanomateriale, datorită proprietăților lor specifice și potențialelor aplicații în domeniul nanotehnologiei, catalizei, electronicii moleculare, dar și în biomedicină, cu aplicații în fabricarea de biosenzori, imagistică medicală, diagnostic molecular și terapeutică sau în eliberarea controlată a medicamentelor [88-94]. Tendința nanoparticulelor de a se auto-asambla în soluție sau pe diferite substraturi, cu formarea de aglomerate este de asemenea o problemă foarte mult investigată, iar dimensiunea clusterilor și aranjamentul particulelor joacă un rol important în comportamentul materialelor [95]. Nanoparticulele de metale nobile (aur, argint, platină, paladiu, sau nanoparticule hibride) sunt cele mai folosite în acest context [96-98]. Printre aceste nanoparticule, în acest studiu, am selectat nanoparticulele de aur (AuNPs) și nanoparticulele de argint (AgNPs).

Am investigat interacțiunile dintre AuNPs și AgNPs și trei anestezice locale. Moleculele selectate sunt: doi amino esteri, și anume: procaina, 2-(dietilamino) etil 4-aminobenzoat și tetracaina, 2-(dimetilamino) etil-4-(butilamino) benzoat, și o amino- amidă, dibucaina (cincocaina), 2-butoxi-*N*-[2-(dietilamino)etil]-chinolina-4-carboxamida. Acțiunea lor farmacologică în producerea de anestezie locală este mediată de membrane, și modelarea acestor fenomene a fost unul dintre subiectele de cercetare de interes major în colectivul nostru [99-103]. Proprietățile acido-bazice și echilibrele protolitice ale acestor anestezice au fost de asemenea investigate [104, 105], având în vedere că ele joacă un rol important în interacțiunea speciilor moleculare prezente în soluții la o anumită valoare de pH cu nanoparticulele metalice încărcate [99-101].

De asemenea a fost investigată interacțiunea dintre AuNPs și propranolol : (RS)-1-(1-metiletilamino)-3-(1-naftiloxi) propan-2-ol, un agent blocant cardioselectiv al receptorilor beta 1-adrenergici, cel mai folosit medicament în tratarea hipertensiunii arteriale [106].

AuNPs au fost obținute prin reducerea clorurii de aur (III), AuCl_3 cu citrat de sodiu în soluție apoasă, conținând acid tanic pentru a controla dimensiunea particulelor, AgNPs au fost preparate prin reducerea nitrului de argint, AgNO_3 , cu glucoză în soluții apoase bazice în prezență de TEOS și asparagină, cu rol de agenți de stabilizare. Soluțiile conținând nanoparticulele metalice fără/cu biomolecule au fost caracterizate prin spectrele optice de absorbție, imagistica TEM și AFM, măsurători de potențial zeta.

Dispersia de AuNP [107] prezenta un maxim de absorbție la 515-517 nm și mare stabilitate în timp, confirmată de valoarea potențialului zeta (-40 mV). Diametrul lor mediu, estimat din imaginile TEM era de $5 \pm 1,3$ nm, soluția coloidală de AgNP este foarte stabilă (potențial zeta: -44,2 mV); maximul de absorbție în vizibil este a 406 nm, iar dimensiunea medie a nanoparticulelor (din TEM): $24,5 \pm 5,3$ nm [108-111].

Adăugarea soluției de anestezic în cantități crescătoare produce o deplasare progresivă spre roșu a maximumului de absorbție și o lărgire a spectrului, caracteristice pentru asamblarea AuNPs, mediată în cazul nostru de moleculele biologic active adsorbite pe suprafața lor. Tendințele sunt, în general, similare pentru cele trei anestezice, totuși efectul dibucainei este, evident, cel mai puternic. Deși agregatele apar practic imediat după amestecarea soluțiilor, procesul de auto-asamblare continuă, avansând în timp. Absorbanța maximă descrește pentru timpi mai mari, datorită coagulării și sedimentării agregatelor. După una-două săptămâni, depunerea AuNPs autoasamblate a fost completă, și culoarea soluției a dispărut.

Imaginile TEM confirmă efectul de mediator al moleculelor biologic active de anestezic în asamblarea AuNPs. Imaginile pentru AuNPs asamblate în prezența moleculelor de procaină prezintă agregate complexe formate din

șiruri de molecule asociate; pentru dibucaină sau tetracaină se formează agregate sferice, în cazul dibucainei agregatele fiind mai mari și compacte, incluzând sute de particule. Putem conchide că interacțiunile dintre AuNPs și moleculele de anestezic sunt mai puternice în cazul dibucainei și cel mai puțin intense pentru procaină.

În cazul nanoparticulelor de argint, situația este foarte asemănătoare, atât în privința deplasărilor în spectrele UV-Vis (Fig. 6.9), cât și în imaginile TEM (6.10) și AFM (Fig. 6.11). Se menține și aceeași ordine a intensității efectelor pentru cele trei anestezice.

În condițiile noastre experimentale (pH = 5,5) cele trei anestezice ar trebui să fi aproape exclusiv în forma protonată monocationică AH^+ . De vreme ce AuNPs acoperite cu citrat și AgNP acoperite cu silice hidratată sunt încărcate negativ, adsorbția moleculelor de anestezic ar trebui să fi favorizată de atracțiile electrostatice. Adsorbția duce la o scădere a valorilor potențialului zeta al nanoparticulelor, promovând coagularea sistemelor coloidale. Totuși, diferențele marcate în comportamentul nanoparticulelor de aur față de cele trei anestezice sugerează faptul că interacțiunile specifice dintre nanoparticule și moleculele de anestezic ar trebui de asemenea să joace un rol în legarea AuNPs în construirea ansamblurilor.

De exemplu, moleculele organice pot media auto-asamblarea prin formarea de legături de hidrogen cu atomii de oxigen sau atomii de H hidroxilic din stratul acoperitor al AuNPs. Moleculele de dibucaină prezintă cea mai mare disponibilitate pentru formarea de punți de hidrogen între AuNPs – prin atomii de O și H a grupării amidice, prin O din gruparea eterică, și chiar prin atomul de N chinolinic. Fără îndoială, nici interacțiunile hidrofobe nu pot fi excluse. Probabil o combinație a acestor interacțiuni duce la aceste auto-asamblări.

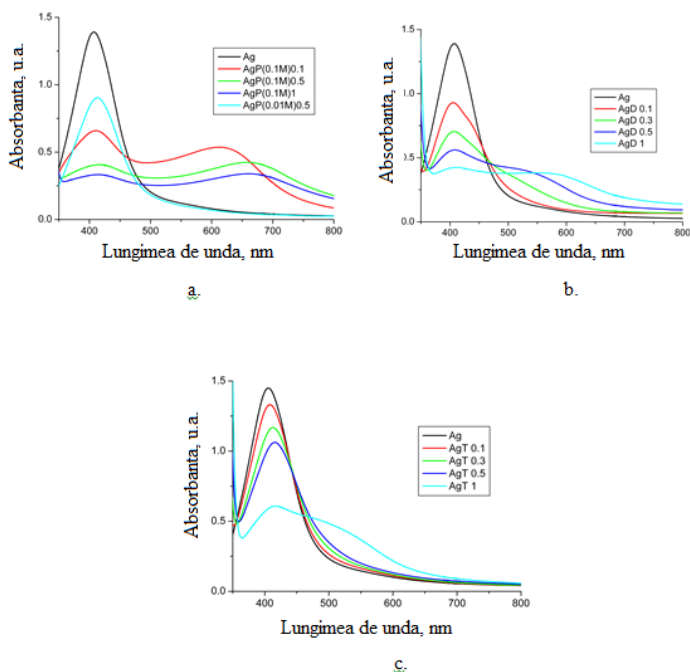


Figura 6.9. Spectrul optic de absorbție al AgNPs pentru soluții 0,01 M și 0,1 M de procaină, P (a), 0,01 M dibucaină, D (b), și 0,01 M tetracaină, T (c), volume (ml) de soluții de anestezic adăugate pentru 2 ml soluție AgNPs sunt indicate în chenar

Interacțiunile semnificative relevate de cercetarea noastră, dintre moleculele de anestezice locale și nanoparticulele de aur și argint, rezultate prin modificări ale spectrului UV-Vis și auto-asamblări de nanoparticule, atât în soluție cât și pe suport solid, demonstrează potențialul lor de a construi suprafețe bine definite din punct de vedere molecular, cu caracteristici ale suprafeței controlate, cu posibile aplicații industriale, biologice și medicale, precum biosenzori selectivi pentru anestezice din diverse fluide biologice. Pe de altă parte, sistemele coloidale care conțin nanoparticule de argint și-ar putea

găsi aplicații medicale, bazându-se pe bine cunoscutele [44] proprietăți antimicrobiene ale argintului.

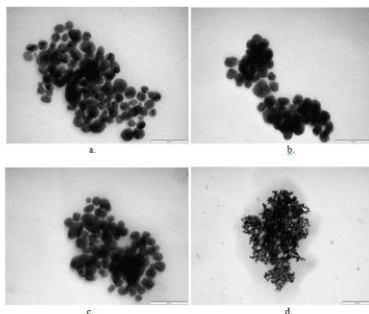


Figura 6.10. Imaginile TEM ale AgNPs cu soluții de anestezic în rapoarte de volum de 1:1, anestezicul fiind procaina 0,01 M (a), dibucaina 0,001 M (b), tetracaina 0,01 M (c,d); imaginile corespund la 100 nm (a, b, c), respectiv la 200 nm (d).

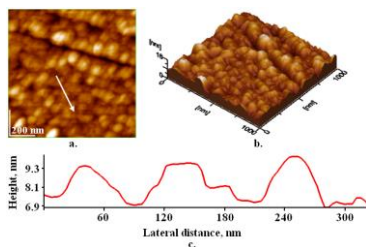


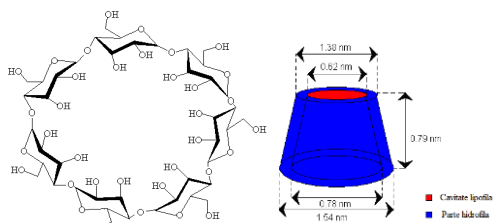
Figura 6.11. Imagini AFM ale AgNPs pe sticlă în prezență de dibucaină; aria scanată 1 $\mu\text{m} \times 1 \mu\text{m}$: (a) imagine topografică 2D-; (b) imagine topografică; (c) secțiune transversală de-a lungul săgeții din imaginea (a).

Interacțiunea dintre propranolol și AuNP este mai puțin intensă, fiind relevantă de deplasarea maximului de absorbție din spectrele UV-Vis și de imaginile TEM.

7. BIOSISTEME FORMATE DIN NANOPARTICULE DE AUR ȘI COLAGEN

În experimentele noastre, de obținere a nanoparticulelor de aur am folosit β -ciclodextrina (β -CD, atât ca reducător, cât și ca agent de protecție pentru obținerea de GNP, care pot fi apoi utilizate în aplicații biologice. Ca un prim test, pentru funcționalizarea moleculelor de GNP a fost ales colagenul.

Reducerea HAuCl_4 cu soluție de β -CD (Schema. 7.1) la pH bazic se produce la temperatura camerei și a fost urmărită prin monitorizarea spectrelor UV-Vis. Imaginile TEM prezintă particule preponderent sferice, cu diametrul mediu $7,7 \pm 1,3$ nm. Soluțiile coloidale sunt foarte stabile, deși potențialul zeta măsurat pentru GNP a fost doar $-23,4$ mV. Prin urmare, stabilitatea observată a nanoparticulelor de Au obținută prin reducere cu β CD nu poate fi atribuită în primul rând repulsiilor electrostatice dintre particule care ar preveni coagularea sistemului, ci mai degrabă efectului de acoperire al β CD de pe suprafața nanoparticulelor. Spectrele FT Raman pentru soluția de β -CD înainte și după reacția cu HAuCl_4 și formarea de GNP sunt foarte asemănătoare, nu se observă diferențe majore. Ca urmare, sunt puțin probabile interacțiuni directe Au-O între atomii de aur și cele 21 grupări hidroxil ale β -CD.



Schema 7.1. Structura și dimensiunea geometrică pentru β -ciclodextrină [112]

Adăugând volume crescătoare de soluție acidă de colagen (pH 3, concentrație 1 g/L) peste soluția coloidală de aur, maximul de absorbție este inițial deplasat spre roșu, apoi rămâne neschimbat pentru cantități mari de

colagen, în timp ce scăderea absorbției în timp este lentă. Culoarea soluției rămâne roșu-violet chiar după două zile. Aici are loc doar o agregare limitată a nanoparticulelor. Efectul unei soluții de acid acetic, de aceeași concentrație ca și cea folosită la prepararea soluțiilor de colagen este diferit: se produce în timp agregarea și sedimentarea particulelor de aur. Astfel, colagenul previne agregarea avansată a GNP și separarea din soluție. Autoasamblarea GNP în prezența soluției acide de colagen nu este datorată exclusiv acidității soluției, ci moleculele de colagen au un efect de mediere specific asupra asamblării nanoparticulelor.

Potențialul zeta măsurat pentru soluțiile acide de colagen a fost pozitiv: + 29,7 mV, iar diametrul mediu al particulelor a fost dat de DLS ca fiind de 740 nm, cu o distribuție cuprinsă între 525 și 950 nm. În amestecul soluțiilor acide de colagen (particule încărcate pozitiv) cu solurile de GNPs (ușor încărcate negativ), valoarea potențialului zeta măsurată a fost pozitivă: + 23,1 mV (3 g/L colagen). Prin DLS s-au observat două populații foarte distincte: particule cu o dimensiune medie de 70-90 nm și 530 nm. Putem presupune că dimensiunile mai mici corespund la asociate de GNP, în timp ce fracțiunea de dimensiune mare corespunde la agregate de colagen, posibil conținând și GNP. Conjugarea GNP cu particule de colagen este favorizată de atracții electrostatice între particule încărcate diferit, dar interacțiunile specifice ar trebui să joace un rol mai important.

În unele imagini AFM obținute prin uscarea filmelor mixte colagen-GNP realizate prin adsorbție verticală timp de 10 s pe sticlă și uscare în aer, apar fibrele de colagen. Se observă și nanoparticule de aur, atât pe suprafața fibrei, cât și în exteriorul ei (Fig. 7.8). Probabil GNP au fost de asemenea absorbite în interiorul fibrelor, în timpul procesului de autoasociere a moleculelor de colagen și a agregatelor în fibrile. Astfel, fibrilele de colagen obținute în prezența solurilor de GNPs sunt mineralizate cu nanoparticule metalice.

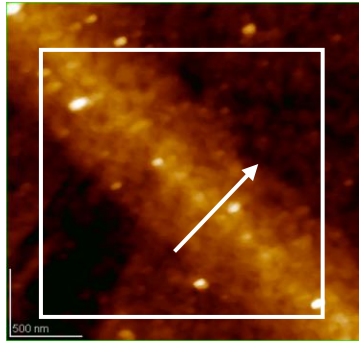


Figura 7.8. Imagini topografice 2D ale fibrelor de collagen cu GNPs pe sticlă, asamblate din soluții apoase de collagen în prezență de GNPs. Aria de scanare:

5 μm x 5 μm

8.NANOPARTICULE DE AUR OBȚINUTE PRIN METODE BIOGENICE

Prepararea nanoparticulelor metalice pe cale biologică (sinteza verde) a devenit în ultimii ani un domeniu important în chimie, biologie și știința materialelor [113-115]. Sinteza nanoparticulelor metalice cu materiale biologice a dus la obținerea de nanoparticule cu aceleași forme și mărimi ca nanoparticulele obținute prin metode chimice și fizice [116]. Agenții de stabilizare sunt conținuți, de obicei, în aceleași materiale ca și agenții de reducere. Majoritatea acestor sinteze au loc la temperatura camerei sau foarte aproape de aceasta. În acest studiu, am preparat nanoparticule de aur, folosind metode biogenice și anume reducerea acidului tetracloroauric trihidrat ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) cu 3 extracte de plante medicinale și anume rădăcina de angelica (*Angelica archangelica*), sunătoare (*Hypericum perforatum herba*) și scoarța de hamamelis (*Hamamelis virginiana*) [117, 118].

S-a studiat posibilitatea utilizării acestor extracte de plante ca și agenți reducători pentru Au (III) și în același timp ca și agenți de stabilizare pentru nanoparticulele de aur obținute, precum și auto-asamblarea nanoparticulelor de aur, mediată de substanțele active conținute în aceste extracte. În acest scop s-au urmărit diferite condiții de lucru: concentrația agenților de reducere, succesiunea adăugării lor, temperatura și pH-ul.

Cele trei plante utilizate sunt bine cunoscute ca plante medicinale. Rădăcinile de *angelica* conțin acid angelic [$\text{trans-CH}_3\text{-CH=C(CH}_3\text{)-COOH}$], rășini, un fitosterol și un ulei volatil format din terpene (felandren) și sesquiterpene [119], esteri ai unor acizi, printre care acid valerianic, oxipentadecilic, polizaharide și tanin. Planta și florile de *sunătoare* conțin tanin, ulei eteric [120], colină, derivați antracenicici, tanin, flavonozide, acid cafeic și clorogenic. *Hamamelis* [121] conține în scoarță taninuri, flavonoide, ulei volatil, rășini, fitosteroli etc. Prin dozare fotometrică, pentru extractele vegetale folosite s-au determinat concentrațiile în compuși polifenolici

reducători, exprimate în cantități echivalente de acid cafeic. Aceste cantități sunt importante, întrucât acești compuși sunt reducătorii care intervin în obținerea Au (0) din Au (III).

Imagistica AFM arată un comportament diferit al nanoparticulelor de aur sintetizate prin reducere cu extractele menționate, după cum se poate observa de ex. pentru Hypericum în Fig. 8.13 și pentru Angelica în Fig. 8.14.

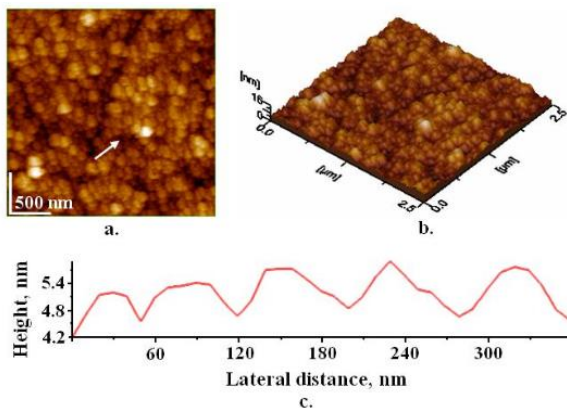


Figura 8.13. Imagini AFM ale GNPs pe sticlă, obținute cu extract de Hypericum (diluat 1:100); aria de scanare $2,5 \mu\text{m} \times 2,5 \mu\text{m}$: a) Imagine topografică 2D; b) Imagine topografică 3D; c) Secțiune transversală de-a lungul săgeții din Fig. 8.13 a).

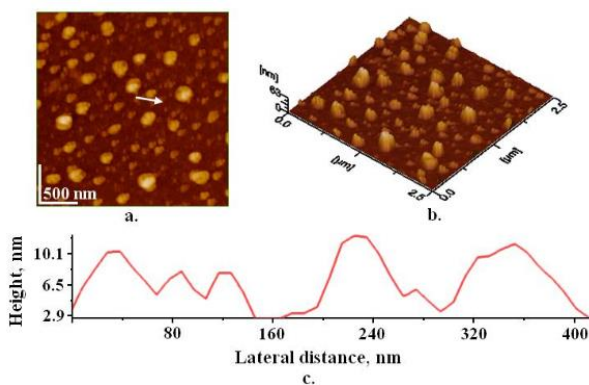


Figura 8.14. Imagini AFM ale GNPs pe sticlă, obținute cu extract de Angelica (diluat 1:6); aria de scanare 2,5 μm x 2,5 μm : a) Imagine topografică 2D; b) Imagine topografică 3D; c) Secțiune transversală de-a lungul săgeții din Fig. 8.14 a).

Din spectru FTIR se poate observa faptul că în prezența de Angelica, intensitatea benzilor pentru OH (3370 cm^{-1}) și C-OH (1055 cm^{-1}) scade și crește pentru COOH (1410 cm^{-1} și 1655 cm^{-1}).

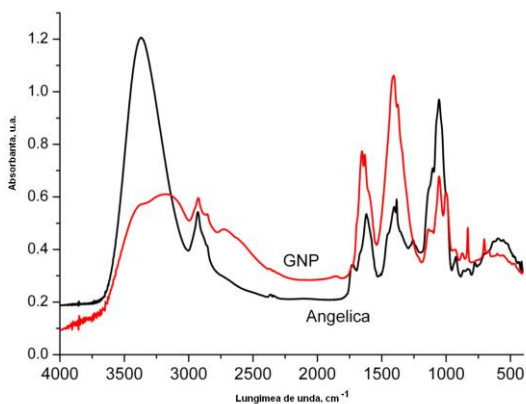


Figura 8.15 Spectrul FT-IR pentru extractul de Angelica (linia neagră) și GNP obținut prin reducere cu extract de Angelica (linia roșie).

9. CONCLUZII GENERALE

Comportamentul 1,2-dimiristoil-sn-glicerol-3-fosfatidil colinei (DMPC) și al colesterolului (CHO), cât și al amestecului lor la diferite compoziții (de la 9:1 la 1:9), a fost investigat la interfața aer/apă prin măsurători de presiune superficială și potențial superficial (ΔV) folosind tehnica Langmuir cuplată cu metoda plăcii vibrante.

Filmele Langmuir-Blodgett formate au fost transferate pe suport solid (sticlă șlefuită optic). Aceste filme sunt importante ca modele de membrane, și investigarea lor este un pas necesar pentru a înțelege structura membranelor și proprietățile acestora.

A fost studiată interacțiunea dintre DMPC, CHO și amestecurile lor (1:1, 7:3, 3:7) cu propranololul, pentru a compara cu comportamentul lor pe subfază de apă ultrapură, iar nanostructurile obținute au fost vizualizate cu AFM.

De asemenea a fost studiată interacțiunea dintre DMPC, CHO și acid stearic (AS), ales cu rol comparativ, cu colagenul de tip I din tendonul lui Ahile de bovină. În toate cazurile se observă o expansiune a filmelor în prezența proteinei care crește cu creșterea cantității de colagen din subfază. Presiunea de colaps a filmelor se menține, în schimb, la aceleași valori ca și pe subfază apoasă. Nanostructurile lipidice formate în prezența colagenului au fost analizate folosind AFM.

Pe lângă nanostructurile lipidice obținute cu Langmuir-Blodgett, sunt prezentate nanostructurile lipidice lipozomale care apar între DPPC și DOPC, obținute prin formarea de vezicule.

S-au preparat nanoparticule de aur de diferite dimensiuni medii (5 nm, 10 nm, 20 nm, 30 nm), adaptând rețete existente în literatură și nanoparticule de argint având un diametru mediu de 12 nm, folosind o rețetă nouă de preparare.

Probele obținute au fost caracterizate folosind spectroscopia UV-VIS (pentru determinarea maximului de absorbție) și TEM (pentru determinarea diametrului particulelor). Folosind datele TEM, s-au construit histogramele distribuției după mărime a nanoparticulelor.

S-au realizat filme superficiale din nanoparticule de aur de diferite dimensiuni prin etalare din solvenți organici pe suprafața apei prin tehnica Langmuir-Blodgett.

Am funcționalizat aceste filme cu acid stearic și am studiat izotermele de compresie ale filmelor de nanoparticule de aur și ale filmelor hibride cu acid stearic. Am realizat vizualizarea acestor filme după depunerea pe un suport solid cu ajutorul AFM.

Filmele de GNP etalate cu ajutorul solvenților organici (cloroform) dau aranjamente ordonate la interfața aer-apă. Aplicând o anumită presiune superficială laterală, se obțin împachetări controlate ale particulelor. Aceste structuri se mențin și după transferul LB de la interfață pe suportul solid.

Etalarea filmului de acid stearic pe filmul de GNP, comprimat anterior la o presiune laterală dată, a dus la interacțiunea dintre acidul stearic și GNP și funcționalizarea parțială a acestora la interfața aer-apă.

Izotermele de compresie evidențiază influența GNP asupra filmului de acid stearic. Transferul filmului compozit (acid stearic și GNP) la presiuni superficiale alese și constante pe suporturi solide a făcut posibilă investigarea AFM a filmelor.

Observațiile AFM au demonstrat că stratul de GNP stabilizat cu acid stearic formează aranjamente ordonate – în domenii de împachetare compactă – prin autoasblare la interfețe fluide. Influența naturii suportului solid folosit a fost de asemenea evidențiată de investigațiile AFM.

Tehnica LB s-a dovedit a fi importantă și utilă, în obținerea de filme LB subțiri, monostraturi sau multistraturi, organizate și conținând nanoparticule de aur.

Nanoparticulele de argint (AgNPs) au fost preparate în dispersii coloidale apoase prin reducerea Ag^+ cu glucoză în mediu alcalin. S-a adăugat TEOS și L-asparagină cu rol de stabilizatori ai nanoparticulelor de argint.

Nanoparticulele de argint obținute prin metoda propusă în acest studiu s-au dovedit a fi destul de stabile în timp, datorită acoperirii lor mixte cu hidrat de silice și asparagină. Nu în ultimul rând, ele prezintă o sensibilitate față de moleculele de anestezic investigate.

A fost investigată interacțiunea nanoparticulelor de aur și respectiv a nanoparticulelor de argint cu trei anestezice locale (procaină, dibucaină și tetracaină).

De asemenea a fost investigată interacțiunea nanoparticulelor de aur cu un medicament antihipertensiv, propranolol și s-a observat că aceasta apare în timp, la 3 zile de la prepararea amestecurilor.

Spectrele optice arată modificări în banda de absorbție a nanoparticulelor, legate de auto-asamblarea lor mediată de moleculele de anestezice și depinzând de evoluția în timp a procesului de agregare.

Imaginile TEM arată auto-asamblările formate prin asocierea nanoparticulelor de metal nobil în prezența anezesticelor și evidențiază diferențe semnificative în comportamentul nanoparticulelor de aur în prezența celor trei anestezice.

Măsurătorile de potențial zeta au fost aplicate pentru a caracteriza stabilitatea electrostatică a NPs.

Imaginile AFM arată caracteristicile filmelor de AgNPs depozitate pe suport de sticlă.

Efectul principal al diferitelor anestezice poate fi descris în termeni de atracții electrostatice dintre nanoparticulele de metal încărcate și moleculele de anestezice, aflate în forma cationică la pH-ul de lucru.

Interacțiunile semnificative relevate de cercetarea noastră, dintre moleculele de anestezice locale și nanoparticulele de aur și argint, demonstrează potențialul lor de a construi suprafețe bine definite din punct de vedere molecular, cu caracteristici ale suprafeței controlate, cu posibile aplicații industriale, biologice și medicale, precum biosenzori selectivi pentru anestezice din diverse fluide biologice.

Pe de altă parte, sistemele coloidale care conțin nanoparticule de argint și-ar putea găsi aplicații medicale, bazându-se pe bine cunoscutele proprietăți antimicrobiene ale argintului.

Nanoparticulele de aur au fost preparate prin reducerea soluției de HAuCl_4 cu β -cyclodextrină (β -CD) la pH 11, fără adăugarea vreunui stabilizator, la temperatura camerei. Soluțiile coloidale de aur obținute prezintă stabilitate mare.

Spectrele UV-Vis, imaginile AFM și spectrele FT Raman au fost de asemenea utilizate pentru a caracteriza GNP obținute.

Interacțiunea cu o soluție de colagen tip I din tendonul lui Achilles de bovină, cu pH acid a fost investigată prin măsurători UV-Vis și de potențial zeta și prin imagistică TEM și AFM.

A fost observată asamblarea nanoparticulelor de aur în prezența soluțiilor de colagen și în filme mixte colagen-GNP pe suport de sticlă. Formarea fibrilelor de colagen încărcate cu nanoparticule de aur a fost demonstrată prin imagini AFM.

Introducerea de metode biogenice pentru obținerea de nanoparticule metalice este o urmare a tendinței de a aplica abordări ale "chimiei verzi" în nanotehnologie. Avantajele metodelor biogenice de preparare a nanoparticulelor metalice includ costul scăzut, evitarea contaminării cu solvenți și biocompatibilitatea particulelor obținute, oferindu-le posibile aplicații biomedicale.

Am preparat nanoparticule de aur, pornind de la acid tetracloroauric trihidrat ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) și folosind ca reducători 3 extracte de plante medicinale și anume angelica (*Angelica archangelica*), sunătoare (*Hypericum perforatum*) și hamamelis (*Hamamelis virginiana*). Conținutul de compuși reducători (polifenoli) a fost determinat în fiecare extract folosind dozarea fotometrică și s-a exprimat în echivalent de acid cafeic.

Soluțiile coloidale de aur rezultate au fost caracterizate prin spectroscopie UV-VIZ și FTIR și microscopie electronică de transmisie (TEM). Nanoparticule de aur cu un diametru mediu cuprins între 4-8 nm au fost obținute la o temperatură camerei și la un pH de lucru de 8. Ele prezintă forme variate, de la forme sferice, ovale, până la forme de inimă sau poliedrice. În general, soluțiile coloidale sunt destul de stabile, dar la concentrații scăzute de extract de plante, tendința de auto-agregare este mai mare. Unii compuși prezenți în extractele vegetale stabilizează nanoparticulele de aur, în timp ce alții mediază auto-agregarea lor.

Sistemele coloidale obținute pot avea aplicații biomedicale, atât datorită proprietăților medicinale ale componentelor vegetale adsorbite, cât și a caracteristicilor antibacteriene ale nanoparticulelor de aur.

10. BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Tien H. T., "Bilayer lipid membranes (BLM): theory and practice", Marcel Dekker, Inc, New York, 1974.
2. Finegold L. (ed.), "Cholesterol in membrane models", CRC Press, Boca Raton, 1993.
3. Irimie F.-D., "Elemente de Biochimie", Erdelyi Hirado, Cluj-Napoca, 1998.
4. Henriksen J., Rowat A. C., Ipsen J. H., "Vesicle fluctuation analysis of the effects of sterols on membrane bending rigidity", *European Biophysics Journal*, **33** (8), 732-741, 2004.
5. Mady M. M., "Biophysical Studies on Collagen-Lipid Interaction", *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **104** (2), 144-148, 2007.
6. Mecheri B., Piras L., Caminati G., "Langmuir-Blodgett films incorporating redox mediators for molecular recognition of NADH", *Bioelectrochemistry*, **63**, 13- 18, 2004.
7. Chifu E., Tomoaia-Cotișel M., Albu I., Mocanu A., Sălăjan M.-L., Racz C., Pop D.-V., "Experimental methods in chemistry and biophysics of colloids and interfaces", Presa Universitară Clujeană, Cluj- Napoca, 2004.
8. Moghaddam B., Ali M. H., Wilkhu J., Kirby D. J., Mohammed A. R., Zheng Q., Perrie Y., "The application of monolayer studies in the understanding of liposomal formulations", *International Journal of Pharmaceutics*, **417** (1-2), 235-244, 2011.
9. Brosseau C. L., Bin X., Roscoe S. G., Lipkowski J., "Electrochemical and PM-IRRAS characterization of DMPC + cholesterol bilayers prepared using Langmuir-Blodgett/Langmuir-Schaefer deposition", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **621**, 222-228, 2008.
10. Girard-Egrot A. P., Godoy S., Blum L. J., "Enzyme association with lipidic Langmuir-Blodgett films: Interests and applications in nanobioscience", *Advances in Colloid and Interface Science*, **116**, 205 - 225, 2005.
11. Hunter R. J., "Zeta Potential in Colloid Science: Principles and Applications", Academic Press, 1988.
12. ***, JSPM 4210 User Guidelines, JEOL, 2004.
13. Liu J., "Scanning transmission electron microscopy and its application to the study of nanoparticles and nanoparticle systems", *Journal of Electron Microscopy*, **54** (3), 251-278, 2005.
14. Sabatini K., Mattila J.-P., Kinnunen P. K., "Interfacial Behavior of Cholesterol, Ergosterol, and Lanosterol in Mixtures with DPPC and DMPC", *Biophysical Journal*, **95** (5), 2340-2355, 2008
15. Mocanu A., **Pașca R.-D.**, Horovitz O., Tomoaia-Cotișel M., "Behavior of Mixed DMPC-Cholesterol Monolayers at the Air-Water Interface", *Studia Universitatis Babeș-Boyai Chemia*, **55** (2), 303-312, 2010.
16. Dynarowicz-Latka P., Hac-Wydro K., "Interactions between phosphatidylcholines and cholesterol in monolayers at the air/water interface", *Colloid Surfaces B: Biointerfaces*, **37** (1-2), 21-25, 2004.
17. Yeagle P. L., "Cholesterol and the cell membrane", *Biochimica et Biophysica Acta*, **822** (3-4), 267-287, 1985.
18. Berring E. E., Borrenpohl K., Fliesler S. J., Barnoski Serfis A., "A comparison of the behavior of cholesterol and selected derivatives in mixed sterol-phospholipid Langmuir monolayers: a fluorescence microscopy study", *Chemistry and Physics of Lipids*, **136**, 1-12, 2005.

19. Kim K., Kim C., Byun Y., "Preparation of a Dipalmitoylphosphatidylcholine / Cholesterol Langmuir–Blodgett Monolayer That Suppresses Protein Adsorption", *Langmuir*, **17** (16), 5066-5070, 2005.
20. Davies J. T., Rideal E. K., "Interfacial Phenomena", 2nd ed., Academic Press, New York, 1963.
21. **Pașca R.-D.**, Mocanu A., Horovitz O., Tomoaia-Cotișel M., "Phase Behavior of Cholesterol and Dimyristoyl Phosphatidylcholine Monolayers at the air- water interface", *14th International Conference of Physical Chemistry, ROMPHYSICHEM*, București, Romania, 2-4 June, 2010.
22. **Pașca R.-D.**, Horovitz O., Mocanu A., Tomoaia-Cotișel M., „Self Assemblies of Mixed Lipids at the Air-Water Interface”, *10th International conference on colloids and surfaces chemistry*, Galați, Romania, 9-11 June, 2011.
23. **Pașca R.-D.**, Tomoaia-Cotișel M., Horovitz O., Mocanu A., "Cholesterol and Dimyristoyl Phosphatidylcholine Monolayers at the Air-Water Interface. Structural and Thermodynamic Characterization", in *Proceedings of the Humboldt-Kolleg "Knowledge, Culture, Science. The Fundament of Quality of Life in Society"*, Editura Politehnica Timisoara, Colectia Conferinte, p. 196-202, 2011.
24. Andrade C. A. S., Santos-Magalhaes N., De Melo C. P., "Thermodynamic characterization of the prevailing molecular interactions in mixed floating monolayers of phospholipids and usnic acid", *Journal of Colloid and Interface Science*, **298** (1), 145-153, 2006.
25. Tomoaia-Cotișel M., **Pașca R.-D.**, Horovitz O., Mocanu A., "Surface Potentials of Cholesterol and Dimyristoyl Phosphatidylcholine Monolayers at the Air-Water Interface", *Revue Roumaine de Chimie*, **56** (10-11), 1047-1053, 2011.
26. Tomoaia-Cotișel M., Zsako J., Chifu E., "Dipalmitoyl lecithin and egg lecithin monolayers at an air/water interface", *Ann. Chim. (Rome)*, **71** (3-4), 189-200, 1981.
27. Sugihara G., Yamamoto S. K., Nagadome S., Lee S., Sasaki Y., Shibata O., Igimi H., „Bile acids cannot mix with cholesterol in two-dimensional phases (monolayers) formed on the substrate of 5 M aqueous NaCl solution at pH 1.2 and 25°C ", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **6**, 81-89, 1996.
28. Nagadome S., Suzuki N. S., Mine Y., Yamaguchi T., Nakahara H., Shibata O., Chang C. H., Sugihara G., "Monolayers (Langmuir films) behavior of multi-component systems composed of a bile acid with different sterols and with their 1:1 mixtures", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **58**, 121–136, 2007.
29. Adamson A. W., *Physical Chemistry of Surfaces*, 5th ed., Wiley, New York, 1990.
30. Chou T.-H., Chang C.-H., „Thermodynamic behavior and relaxation processes of mixed DPPC/cholesterol monolayers at the air/water interface", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **17**, 71-79, 2000.
31. Mocanu A., **Pașca R.-D.**, Tomoaia Gh., Horovitz O., Tomoaia-Cotișel M., "Structural and Thermodynamic Characterization of Cholesterol and Dimyristoyl Phosphatidyl Choline Monolayers at the Air/Water Interface", 14th International Conference on Organized Molecular Films (ICOMF 14-LB 14), Paris, France, 10-13 July, 2012.
32. Mocanu A., **Pașca R.-D.**, Horovitz O., Tomoaia-Cotișel M., "Thermodynamic Characterization of Mixed Lipids at the Air-Water Interface", *Processes in Isotopes and Molecules (PIM)*, Cluj-Napoca, Romania, 29 September-01 October 2011.
33. **Pașca R.-D.**, Tomoaia-Cotișel M., Horovitz O., Mocanu A., "Cholesterol and Dimyristoyl Phosphatidylcholine Monolayers at the Air-Water Interface. Structural and Thermodynamic Characterization", *Humboldt-Kolleg "Knowledge, Culture, Science.*

The Fundament of Quality of Life in Society”, Timișoara, Romania, 23–28 November, 2010.

34. Pașca R.-D., Horovitz O., Mocanu A., Tomoaia-Cotișel M., „Self Assemblies of Mixed Lipids at the Air-Water Interface”, *Annals of „Dunarea de Jos” University of Galati, Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics, Fascicle II, Year III (XXXIV)*, pp. 141–147, 2011.
35. Pașca R.-D., “The Interfacial Behavior and Nanostructures of Cholesterol and Dimyristoyl Phosphatidylcholine Monolayers”, *7th International Conference “Students for Students”*, Cluj-Napoca, Romania, 23–25 April 2010.
36. Dynarowicz-Latka P., Minones Jr. J., Conde O., Casas M., Iribarnegaray E., “BAM studies on the penetration of amphotericin B into lipid mixed monolayers of cellular membranes”, *Applied Surface Science*, **246**, 334–341, 2005.
37. Minones Jr. J., Dynarowicz-Latka P., Conde O., Minones J., Iribarnegaray E., Casas M., “Interactions of amphotericin B with saturated and unsaturated phosphatidylcholines at the air/water interface”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **29**, 205–215, 2003.
38. Mandal A., Krishnan R. S. G., Thennarasu S., Panigrahi S., Mandal A. B., “Two-dimensional surface properties of an antimicrobial hydantoin at the air–water interface: An experimental and theoretical study”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **79**, 136–141, 2010.
39. Tagami T., May J. P., Ernsting M. J., Li S.-D., “A thermosensitive liposome prepared with a Cu²⁺ gradient demonstrates improved pharmacokinetics, drug delivery and antitumor efficacy”, *Journal of Controlled Release*, **161**, 142–149, 2012.
40. Wydro P., Flasiński M., Broniatowski M., “Molecular organization of bacterial membrane lipids in mixed systems—A comprehensive monolayer study combined with Grazing Incidence X-ray Diffraction and Brewster Angle Microscopy experiments”, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1818**, 1745–1754, 2012.
41. Peetla C., Stine A., Bhawe R., Kooijman E., Vijayaraghavalu S., Labhasetwar V., “Drug Resistance in Breast Cancer Cells: Biophysical Characterization of and Doxorubicin Interactions with Membrane Lipids”, *Molecular Pharmaceutics*, **7**, 2334–2348, 2010.
42. Woll K. A., Schuchardt E. J., Willis C. R., Ortengren C. D., Hendricks N., Johnson M., Gaidamauskas E., Baruah B., Sostarecz A. G., Worley D. R., Osborne D. W., Crans D. C., “Gel Formulation Containing Mixed Surfactant and Lipids Associating with Carboplatin”, *Chemistry and Biodiversity*, **8**, 2195–2210, 2011.
43. Costalonga B. L. P., da Silva R. C., Caseli L., Molina C., “Interaction of Chlorhexidine with biomembrane models on glass ionomer by using the Langmuir-Blodgett Technique”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **97**, 57–61, 2012.
44. Zhao L., Feng S.-S., “Effects of cholesterol component on molecular interactions between paclitaxel and phospholipid within the lipid monolayer at the air–water interface”, *Journal of Colloid and Interface Science*, **300**, 314–326, 2006.
45. Pujol M., Alisa M. A., Girona V., Prat J., Reig F., “Influence of alkyl length in the miscibility of several types of lecithins. Interaction of doxorubicin with these membrane models”, *Thin Solid Films*, **284–285**, 723–726, 1996.
46. Gaber M. H., Ghannam M. M., Ali S. A., Khalil W. A., “Interaction of Doxorubicin with phospholipid monolayer and liposomes”, *Biophysical Chemistry*, **70**, 223–229, 1998.
47. Arczewska M., Gagos M., “Molecular organization of antibiotic amphotericin B in dipalmitoylphosphatidylcholine monolayers induced by K⁺ and Na⁺ ions: The Langmuir technique study”, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1808**, 2706–2713, 2011.

48. Wiecek A., Dynarowicz-Latka P., Vila-Romeu N., Nieto-Suarez M., Flasiński M., “Interactions between an anticancer drug – edelfosine– and DPPC in Langmuir monolayers”, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects*, **321**, 201–205, 2008.
49. Zhao L., Feng S.-S., Go M. L., “Investigation of Molecular Interactions between Paclitaxel and DPPC by Langmuir Film Balance and Differential Scanning Calorimetry”, *Journal of Pharmaceutical Science*, **93**, 86–98, 2004.
50. Hac-Wydro K., Dynarowicz-Latka P., Wydro P., Bak K., “Edelfosine disturbs the sphingomyelin -cholesterol model membrane system in a cholesterol-dependent way-The Langmuir monolayer study”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **88**, 635–640, 2011.
51. Hac-Wydro K., Dynarowicz-Latka P., “Interaction between nystatin and natural membrane lipids in Langmuir monolayers—The role of a phospholipid in the mechanism of polyenes mode of action”, *Biophysical Chemistry*, **123**, 154–161, 2006.
52. Zhao L., Feng S.-S., “Effects of lipid chain unsaturation and headgroup type on molecular interactions between paclitaxel and phospholipid within model a biomembrane”, *Journal of Colloid and Interface Science*, **285**, 326–335, 2005.
53. Feng S.-S., Gong K., Chew J., “Molecular Interactions between a Lipid and an Antineoplastic Drug Paclitaxel (Taxol) within the Lipid Monolayer at the Air/Water Interface”, *Langmuir*, **18**, 4061–4070, 2002.
54. Gzyl-Malcher B., Handzlik J., Nowak-Stepniowska A., “Interactions of phenytoin with lipids in mixed Langmuir monolayers”, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects*, **321**, 52–59, 2008.
55. Tomoaia-Cotisel M., Tomoaia-Cotisel A., Yupsanis T., Tomoaia G., Balea I., Mocanu A., Racz Cs., “Coating layers of major storage protein from aleurone cells of barley studied by atomic force microscopy”, *Revue Roumaine de Chimie*, **51** (12), 1181–1185, 2006.
56. Dennison S. R., Morton L. H. G., Shorrocks A. J., Harris F., Phoenix D. A., “A study on the interactions of Aurein 2.5 with bacterial membranes”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **68**, 225–230, 2009.
57. Mady M. M., “Biophysical Studies on Collagen-Lipid Interaction”, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **104**, 144–148, 2007.
58. Li J. B., Kragel J., Makievski A. V., Fainermann V. B., Miller R., Mohwald H., “A study of mixed phospholipid/b-casein monolayers at the water-air surface”, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **142**, 355–360, 1998.
59. Chen Q., Xu S., Li R., Liang X., Liu H., “Network structure of collagen layers absorbed on LB film”, *Journal of Colloid and Interface Science*, **316**, 1–9, 2007.
60. Dufrene Y. F., Marchal T. G., Rouxhet P. G., “Probing the organization of adsorbed protein layers: complementarity of atomic force microscopy, X-ray photoelectron spectroscopy and radiolabeling”, *Applied Surface Science*, **144–145**, 638–643, 1999.
61. Xu S., Liu A., Chen Q., Lv M., Yonese M., Liu H., “Self-assembly nano-structure of type I collagen adsorbed on Gemini surfactant LB monolayers”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **70**, 124–131, 2009.
62. Kato S., Matsuyama T., Serizawa T., Kishida A., Akashi M., “HSP 47 and collagen mRNA expression in L929 cells adhered to lipid films”, *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, **12**, 149–156, 2001.
63. Papi M., Arcovito G., Fraziano M., Palmieri V., Greco E., De Spirito M., Maulucci G., Quintiliani G., “Controlled self-assembly of collagen nanoparticle”, *Journal of Nanoparticle Research*, **13**, 6141–6147, 2011.

64. Wilkison M. C., Zaba B. N., Taylor D. M., Laidman D. L., Lewis T. J., "A monolayer study on cytochrome b5-phospholipid interaction", *Biochimica et Biophysica Acta*, **857**, 189-197, 1986.
65. Yu S.-H., McCormack F. X., Voelker D. R., Possmayer F., "Interactions of pulmonary surfactant protein SP-A with monolayers of dipalmitoylphosphatidylcholine and cholesterol: roles of SP-A domains", *Journal of Lipid Research*, **40**, 920-929, 1999.
66. He Q., Zhang H., Tian Y., Li J., "Comparative investigation of structure characteristics of mixed -lactoglobulin and different chain-length phosphatidylcholine monolayer at the air/water interface", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects*, **257–258**, 127–131, 2005.
67. Toimil P., Prieto G., Minones Jr. J., Trillo J. M., Sarmiento F., "Monolayer and Brewster angle microscopy study of bovine serum albumin-DimiristoylPhosphatidyl Choline mixtures at the air-water interface", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **92**, 64–73, 2012.
68. **Pașca R.-D.**, "The interaction of cholesterol-DMPC mixed monolayers and type I collagen. Langmuir-Blodgett technique and AFM approach", 2nd EBSA BIOPHYSICS COURSE ON: Membrane Biophysics and Lipid-Protein Interaction, Bordeaux-Lacanau, France, 24-29 June, 2012.
69. **Pașca R.-D.**, Mocanu A., Tomoaia Gh., Horovitz O., Tomoaia-Cotișel M., "The interaction between lipids and collagen type I", 11th Conference on Colloid and Surface Chemistry – 11 CCSC, Iasi, Romania, 09-11 May, 2013.
70. **Pașca R.-D.**, Mocanu A., Tomoaia Gh., Horovitz O., Tomoaia-Cotișel M., "Membrane Models. The interaction between lipids and proteins", A XXXII Conferință Națională de Chimie, Călimănești-Căciulata, Romania, 03-05 October, 2012.
71. Tu K., Klein M. L., Tobias D. J., „Constant-pressure molecular dynamics investigation of cholesterol effects in a dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer”, *Biophysical Journal*, **75**, 2147–2156, 1998.
72. Nordin D., Donlon L., Frankel D., "Characterising single fibronectin–integrin complexes", *Soft Matter*, **8**, 6151-6160, 2012.
73. Tomoaia Gh., Pop L.-B., Furtos G., Prejmorean C., Petean I., **Pașca R.-D.**, Hosu-Prack A.-G., Mocanu A., Tomoaia-Cotisel M., "The effect of various calcium phosphate particles on collagen mineralization", The 3rd Workshop and 4th Management meeting of the COST TD0903, "Understanding and Manipulating Enzymatic and Proteomic Processes in Biomineralization", Cluj Napoca, Romania, 11-13 October, 2011.
74. Nordin D., Yarkoni O., Donlon L., Savinykh N., Frankel D., "Protein directed assembly of lipids", *Chemical Communications*, **48**, 672–674, 2012.
75. Nordin D., Yarkoni O., Savinykh N., Donlon L., Frankel D., "Revealing the selective interactions of fibronectin with lipid bilayers", *Soft Matter*, **7** (22), 10666-10675, 2011.
76. Donlon L., Nordin D., Frankel D., "Complete unfolding of fibronectin reveals surface interactions", *Soft Matter*, **8**, 9933-9940, 2012.
77. **Pașca R.-D.**, Frankel D., "Interaction of lipids with lectins", COST Action TD0906 Biological Adhesives: from biology to biomimetics "WG3 & WG4 Scientific Workshop", Cluj-Napoca, Romania, 09-11 April, 2013.
78. Slot, J. W., Geuze H. J., "A new method of preparing gold probes for multiple-labeling cytochemistry", *European Journal of Cell Biology*, **38**, 87-93, 1985.
79. Cheng W., Dong S., Wang E., "Synthesis and Self-Assembly of Cetyl trimethyl ammonium Bromide-Capped Gold Nanoparticles", *Langmuir*, **19**, 9434-9439, 2003.

80. Pașca R.-D., "Studiu comparativ privind relația dintre modul de preparare al nanoparticulelor de aur și comportamentul la interfața aer-apă", *6th International Conference "Students for Students"*, Cluj-Napoca, Romania, 10-12 April 2009.
81. Chen S., "Two-dimensional cross-linked nanoparticle networks", *Advanced Materials*, **12**, 186-189, 2000.
82. Chen S., "Langmuir-Blodgett fabrication of two-dimensional robust cross-linked nanoparticle assemblies", *Langmuir*, **17**, 2878-2884, 2001.
83. Chung S.-W., Markovich G., Heath J. R., "Fabrication and alignment of wires in two dimensions", *Journal of Physical Chemistry B*, **102** (35), 6685 – 6687, 1998.
84. Korgel N. A., Fitzmaurice D., "Self-assembly of silver nano-crystals into two-dimensional nanowire arrays", *Advanced Materials*, **10** (9), 661-665, 1998.
85. Reuter T., Vidoni O., Torma V., Schmid G., Nan L., Gleiche M., Chi L., Fuchs H., "Two-dimensional networks via quasi one-dimensional arrangements of gold clusters", *Nano Letters*, **2** (7), 709-711, 2002.
86. Pașca R.-D., Rusu O.-A., "Studies on the Behavior of Gold Nanoparticles at the Air-Water Interface", *5th International Conference "Students for Students"*, Cluj-Napoca, Romania, 18-20 April 2008.
87. Pașca R.-D., Rusu O.-A., "Studies on the Behavior of Gold Nanoparticles at the Air-Water Interface", in Proceedings of the 9th National Symposium on Colloids and Surfaced Chemistry, Galați University Press, pp. 129-132, ISSN 2065-3603, 2008.
88. Huang L., Zhai M., Peng J., Xu L., Li J., Wei G., "Synthesis, size control and fluorescence studies of gold nanoparticles in carboxymethylated chitosan aqueous solutions", *Journal of Colloid and Interface Science*, **316**, 398-404, 2007.
89. El-Isayed I. H., Huang X., El-Sayed M. A., "Surface plasmon resonance scattering and absorption of anti-EGFR antibody conjugated gold nanoparticles in cancer diagnostics: applications in oral cancer", *Nano Letters*, **5**, 829-834, 2005.
90. Chandra P., Das D., Abdelwahab A. A., "Gold nanoparticles in molecular diagnostics and therapeutics", *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, **5**, 363-367, 2010.
91. Youns M., Hoheisel J. D., Efferth T., "Therapeutic and diagnostic applications of nanoparticles", *Current Drug Targets*, **12**, 357-365, 2011.
92. Zhang L., Gu F. X., Chan J. M., Wang A. Z., Langer R. S., Farokhzad O. C., "Nanoparticles in Medicine: Therapeutic Applications and Developments", *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **83**, 761-769, 2008.
93. Rosi N. L., Mirkin C. A., "Nanostructures in biodiagnostics", *Chemical Reviews*, **105**, 1547-1562, 2005.
94. Zheng M., Huang X., in "Biofunctionalization of Nanomaterials", Kumar C. S. S. R. (Ed.), Wiley-VCH, Weinheim, p. 99-124, 2005.
95. Mann S., Shenton W., Li M., Connolly S., Fitzmaurice D., "Biologically Programmed Nanoparticle Assembly", *Advanced Materials*, **12**, 147-150, 2000.
96. Bhattacharyya S., Kudgus R. A., Bhattacharya R., Mukherjee P., "Inorganic nanoparticles in cancer therapy", *Pharmaceutical Research*, **28**, 237-259, 2011.
97. Plascencia-Villa G., Saniger J. M., Ascencio J. A., Palomares L. A., Ramírez O. T., "Use of recombinant rotavirus VP6 nanotubes as a multifunctional template for the synthesis of nanobiomaterials functionalized with metals", *Biotechnology and Bioengineering*, **104**, 871-881, 2009.
98. Buck M. R., Bondi J. F., Schaak R. E., "A total synthesis framework for the construction of high-order colloidal hybrid nanoparticles", *Nature Chemistry*, **4**, 37-44, 2012.

99. Zsakó J., Tomoaia-Cotisel M., Chifu E., Mocanu A., Frangopol P. T., "Influence of stearic-acid monolayers upon the procaine adsorption from underlying alkaline aqueous-solutions", *Biochimica et Biophysica Acta*, **1024**, 227-232, 1990.
100. Tomoaia-Cotisel M., Cadenhead D. A., "Interaction of procaine with stearic-acid monolayers at the air-water interface", *Langmuir*, **7**, 964-974, 1991.
101. Asgharian B., Cadenhead D. A., Tomoaia-Cotisel M., "An epifluorescent microscopy study of the effects of procaine on model membrane systems", *Langmuir*, **9**, 228-232, 1993.
102. Zsakó J., Tomoaia-Cotisel M., Chifu E., Mocanu A., Frangopol P. T., "Procaine interactions with phospholipid monolayers at the air-water interface", *Gazzeta Chimica Italiana*, **124**, 5-9, 1994.
103. Zdrenghea U. V., Tomoaia G., Pop-Toader D. V., Mocanu A., Horovitz O., Tomoaia-Cotisel M., "Procaine Effect on Human Erythrocyte Membrane Explored by Atomic Force Microscopy", *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening*, **14**, 237-247, 2011.
104. Zsakó J., Tomoaia-Cotisel M., Chifu E., Albu I., Mocanu A., Frangopol P. T., "Photolytic equilibria in surface solutions of stearic acid, procaine and benzoic acid at the air-water interface", *Revue Roumaine de Chimie*, **35**, 867-877, 1990.
105. Zsakó J., Tomoaia-Cotisel M., Albu I., Mocanu A., Chifu E., "Acid-base properties of some local anesthetics", *Revue Roumaine de Biochimie*, **28**, 33-40, 1991.
106. Hassan N., Maldonado-Valderrama J., Gunning A. P., Morris V. J., Ruso J. M., "Investigating the effect of an arterial hypertension drug on the structural properties of plasma protein", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **87**, 489-497, 2011.
107. Pașca R.-D., Horovitz O., Mocanu A., Tomoaia-Cotisel M., "Interaction of Silver Nanoparticles with some Biomolecules", *Processes in Isotopes and Molecules (PIM)*, Cluj-Napoca, Romania, 29 September-01 October 2011.
108. Battistini F. D., Olivera M. E., Manzo R. H., "Equilibrium and release properties of hyaluronic acid-drug complexes", *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **49** (4) 588-594, 2013.
109. Pașca R.-D., Horovitz O., Mocanu A., Tomoaia-Cotisel M., "Interaction of Silver Nanoparticles with some Molecules of Biological Interest" *The 10th International conference on colloids and surfaces chemistry*, Galați, Romania, 9-11 June, 2011.
110. Mocanu A., Pașca R.-D., Tomoaia Gh., Avranas A., Horovitz O., Tomoaia-Cotisel M., "Selective effect of procaine, tetracaine and dibucaine on gold nanoparticles", *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, **12** (12) 8935-8939, 2012.
111. Mocanu A., Pașca R.-D., Tomoaia Gh., Gabro C., Frangopol P. T., Horovitz O., Tomoaia-Cotisel M. "New procedure to synthesize silver nanoparticles and their interaction with local anesthetics", *International Journal of Nanomedicine*, Accepted August 8, 2013.
112. Racz Cs. P., Pașca R.-D., Santa S., Kacso I., Mocanu A., Horovitz O., Tomoaia-Cotisel M., "Inclusion Complex of β -Cyclodextrin and Quercetin. Thermodynamic Approach", *Revista de Chimie (Bucharest)*, **62** (10), 992-997, 2011.
113. Sadowski Z., "Biosynthesis and application of silver and gold nanoparticles", In: Perez D. P. (Ed.) *Silver nanoparticles*, *In-Tech Publ.*, pp. 257-276, 2010.
114. Prathna T. C., Mathew L., Chandrasekaran N., Raichur A. M., Mukherjee A., "Biomimetic synthesis of nanoparticles: science, technology & applicability", In: Mukherjee A. (Ed.) *Biomimetics Learning from Nature*, *In-Tech Publ.*, pp. 1-20, 2010.
115. Thakkar K. N., Mhatre S. S., Parikh R. Y., "Biological synthesis of metallic nanoparticles", *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, **6**, 257-262, 2010.

116. Parsons J. G, Peralta-Videa J. R., Gardea-Torresdey J. L., Chapter 21: "Use of plants in biotechnology: Synthesis of metal nanoparticles by inactivated plant tissues, plant extract, and living plants", In: Sarkar D., Datta R., Hannigan R. (Eds.), *Developments in environmental science* vol. 5, Elsevier, Amsterdam, pp. 463-485, 2007.
117. Bozga I., Cobzac C., **Pașca R.-D.**, Mocanu A., Tomoaia-Cotișel M., Horovitz O., „Sinteza biogenică a unor nanoparticule”, A VI-a conferință națională cu participare internațională „Coroziune și protecție anticorozivă, CPA”, Cluj-Napoca, Romania, 22-24 September 2011.
118. **Pașca R.-D.**, Mocanu A., Cobzac S., Petean I., Horovitz O., Tomoaia-Cotișel M., “Biogenic syntheses of gold nanoparticles using plant extracts”, *Particulate Science and Technology*, submitted.
119. Kerrola K., Galambosi B., Kallio H., “Characterization of volatile composition and odor of Angelica (*Angelica archangelica* Subsp. *Archangelica* L.) root extracts”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **42**, 1979-1988, 1994.
120. Radusiene J., Judzentiene A., Bernotiene G., “Essential oil composition and variability of *Hypericum perforatum* L. growing in Lithuania”, *Biochemical Systematics and Ecology*, **33** (2), 113124, 2005.
121. *** Committee on Herbal Medicinal Products Assessment Report on Hamamelis Virginiana L., cortex Hamamelis Virginiana L., folium Hamamelis Virginiana L., folium et cortex aut ramunculus destillatum, European Medicines Agency, London, 2010.

11. PUBLICAȚII ORIGINALE

1. ARTICOLE PUBLICATE SAU ACEPATE SPRE PUBLICARE

1.1. REVISTE COTATE ISI (IF-factor de impact);

1. **Roxana-Diana Pașca**, Aurora Mocanu, Simona Cobzac, Ioan Petean, Ossi Horovitz, Maria Tomoaia-Cotișel, "Biogenic syntheses of gold nanoparticles using plant extracts", *Particulate Science and Technology*, **2013**, accepted August 27 th (IF=0,545).
2. Aurora Mocanu, **Roxana-Diana Pașca**, Gheoghe Tomoaia, Corina Gabro, Petre Frangopol, Ossi Horovitz, Maria Tomoaia-Cotișel, "New procedure to synthesize silver nanoparticles and their interaction with local anesthetics", *International Journal of Nanomedicine*, **2013**, accepted August 9 th (IF=4,027).
3. Aurora Mocanu, **Roxana-Diana Pașca**, Gheorghe Tomoaia, Antonis Avranas, Ossi Horovitz, Maria Tomoaia-Cotișel, "Selective effect of procaine, tetracaine and dibucaine on gold nanoparticles", *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, **2012**, 12 (12) 8935-8939 (IF=1,563).
4. Maria Tomoaia-Cotișel, **Roxana-Diana Pașca**, Ossi Horovitz, Aurora Mocanu, "Surface Potentials of Cholesterol and Dimyristoyl Phosphatidylcholine Monolayers at the Air-Water Interface", *Revue Roumaine de Chimie*, **2011**, 56 (10-11), 1047-1053 (IF=0,418).
5. Csaba Pal Racz, **Roxana-Diana Pașca**, Szabolcs Santa, Irina Kacso, Aurora Mocanu, Ossi Horovitz, Maria Tomoaia-Cotișel, „Inclusion Complex of β -Cyclodextrin and Quercetin. Thermodynamic Approach”, *Revista de Chimie (Bucharest)*, **2011**, 62 (10), 992-997 (IF=0,599).
6. Aurora Mocanu, **Roxana-Diana Pașca**, Ossi Horovitz, Maria Tomoaia-Cotișel, "Behavior of Mixed DMPC-Cholesterol Monolayers at the Air-Water Interface", *Studia Universitatis Babeș-Bolyai- Chemia*, **2010**, 2 (II), 303-312 (IF=0,231).

1.2. LUCRĂRI PUBLICATE ÎN PROCEEDINGS:

7. **Roxana-Diana Pașca**, Maria Tomoaia-Cotișel, Ossi Horovitz, Aurora Mocanu, "Cholesterol and Dimyristoyl Phosphatidylcholine Monolayers at the Air-Water Interface. Structural and Thermodynamic Characterization", in *Proceedings of the Humboldt-Kolleg "Knowledge, Culture, Science. The Fundament of Quality of Life in Society"*, Editura Politehnică Timișoara, Colecția Conferințe, **2011**, p. 196-202, ISBN 978-606-554-314-0.
8. **Roxana-Diana Pașca**, Ossi Horovitz, Aurora Mocanu, Maria Tomoaia-Cotișel, „Self Assemblies of Mixed Lipids at the Air-Water Interface”, *Annals of „Dunarea de Jos” University of Galați, Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics*, Fascicle II, Year III (XXXIV), **2011**, pp. 141-147 (BDI).
9. **Roxana-Diana Pașca**, Oana-Alexandra Rusu, "Studies on the Behavior of Gold Nanoparticles at the Air-Water Interface", in *Proceedings of the 9th National Symposium on Colloids and Surfaced Chemistry*, Galați University Press, **2008**, pp. 129-132, ISSN 2065-3603.

2. PARTICIPĂRI LA CONFERINȚE

2.1. în străinătate

1. Emöke Volentiru, Réka Csutak, **Roxana-Diana Pașca**, Norbert Nagy, Zoltán Hörvölgyi, "Silica coatings with controlled morphology", *10th Conference on Colloid Chemistry (10CCC)*, **Budapest, Hungary**, 29-31 August, **2012** (oral presentation).

2. Aurora Mocanu, **Roxana-Diana Pașca**, Gheorghe Tomoaia, Ossi Horovitz, Maria Tomoaia-Cotișel, “Structural and Thermodynamic Characterization of Cholesterol and Dimyristoyl Phosphatidyl Choline Monolayers at the Air/Water Interface”, *14th International Conference on Organized Molecular Films (ICOMF 14-LB 14)*, **Paris, France**, 10-13 July, **2012** (poster).

3. **Roxana-Diana Pașca**, “The interaction of cholesterol-DMPC mixed monolayers and type I collagen. Langmuir-Blodgett technique and AFM approach”, *2nd EBSA BIOPHYSICS COURSE ON: Membrane Biophysics and Lipid-Protein Interaction*, **Bordeaux-Lacanau, France**, 24-29 June, **2012**, (oral presentation).

4. **Roxana-Diana Pașca**, Réka Csutak, Norbert Nagy, Emöke Volentiru, Zoltán Hörvölgyi, “SiO₂ thin films containing Stöber silica particles: structural, optical and wettability properties”, *Conference of Chemical Engineering 2012, Veszprem, Hungary*, 24-26 April, **2012** (oral presentation).

2.2. în țară

5. **Roxana-Diana Pașca**, Aurora Mocanu, Gheorghe Tomoaia, Ossi Horovitz, Maria Tomoaia-Cotișel, “The interaction between lipids and collagen type I”, *11th Conference on Colloid and Surface Chemistry – 11 CCSC, Iasi, Romania*, 09-11 May, **2013** (oral presentation).

6. **Roxana-Diana Pașca**, Daniel Frankel, “Interaction of lipids with lectins”, *COST Action TD0906 Biological Adhesives: from biology to biomimetics “WG3 & WG4 Scientific Workshop”*, **Cluj-Napoca, Romania**, 09-11 April, **2013** (poster).

7. **Roxana-Diana Pașca**, Aurora Mocanu, Gheorghe Tomoaia, Ossi Horovitz, Maria Tomoaia-Cotișel, “Membrane Models. The interaction between lipids and proteins”, *A XXXII Conferință Națională de Chimie, Călimănești-Căciulata, Romania*, 03-05 October, **2012** (poster).

8. Gheorghe Tomoaia, Lacrimioara-Bianca Pop, Gabriel Furtos, Cristina Prejmearan, Ioan Petean, **Roxana-Diana Pașca**, Alexandra-Gertrud Hosu-Prack, Aurora Mocanu, Maria Tomoaia-Cotișel. “The effect of various calcium phosphate particles on collagen mineralization”, *The 3rd Workshop and 4th Management meeting of the COST TD0903, “Understanding and Manipulating Enzymatic and Proteomic Processes in Biomineralization”*, **Cluj Napoca, Romania**, 11-13 October, **2011** (poster).

9. **Roxana-Diana Pașca**, Ossi Horovitz, Aurora Mocanu and Maria Tomoaia-Cotișel, “Interaction of Silver Nanoparticles with some Biomolecules”, *Processes in Isotopes and Molecules (PIM)*, **Cluj-Napoca, Romania**, 29 September-01 October **2011** (poster).

10. Aurora Mocanu, **Roxana-Diana Pașca**, Ossi Horovitz and Maria Tomoaia-Cotișel, “Thermodynamic Characterization of Mixed Lipids at the Air-Water Interface”, *Processes in Isotopes and Molecules (PIM)*, **Cluj-Napoca, Romania**, 29 September-01 October **2011** (poster).

11. Ioana Bozga, Codruța Cobzac, **Roxana-Diana Pașca**, Aurora Mocanu, Maria Tomoaia-Cotișel, Ossi Horovitz, „Sinteza biogenică a unor nanoparticule”, *A VI-a conferință națională cu participare internațională „Coroziune și protecție anticorozivă, CPA”*, **Cluj-Napoca, Romania**, 22-24 September **2011** (oral presentation).

12. **Roxana-Diana Pașca**, Ossi Horovitz, Aurora Mocanu, Maria Tomoaia-Cotișel, „Interaction of Silver Nanoparticles with some Molecules of Biological Interest” *The 10th International conference on colloids and surfaces chemistry*, **Galați, Romania**, 9-11 June, **2011**, (poster).

13. **Roxana-Diana Pașca**, Ossi Horovitz, Aurora Mocanu, Maria Tomoaia-Cotișel, „Self Assemblies of Mixed Lipids at the Air-Water Interface”, *10th International conference on colloids and surfaces chemistry*, **Galați, Romania**, 9-11 June, **2011**, (oral presentation)

- 14. Roxana-Diana Pașca**, Maria Tomoaia-Cotișel, Ossi Horovitz, Aurora Mocanu, "Cholesterol and Dimyristoyl Phosphatidylcholine Monolayers at the Air-Water Interface. Structural and Thermodynamic Characterization", *Humboldt-Kolleg "Knowledge, Culture, Science. The Fundament of Quality of Life in Society"*, **Timișoara, Romania**, 23-28 November, **2010**, (oral presentation).
- 15. Roxana-Diana Pașca**, Aurora Mocanu, Ossi Horovitz, Maria Tomoaia-Cotișel, "Phase Behavior of Cholesterol and Dimyristoyl Phosphatidylcholine Monolayers at the air- water interface", *14th International Conference of Physical Chemistry, ROMPHYSICHEM, București, Romania*, 2-4 June, **2010**, (poster).
- 16. Roxana-Diana Pașca**, "The Interfacial Behavior and Nanostructures of Cholesterol and Dimyristoyl Phosphatidylcholine Monolayers", *7th International Conference "Students for Students"*, **Cluj-Napoca, Romania**, 23-25 April **2010**, (poster).
- 17. Roxana-Diana Pașca**, "Studiu comparativ privind relația dintre modul de preparare al nanoparticulelor de aur și comportamentul la interfața aer-apă", *6th International Conference "Students for Students"*, **Cluj-Napoca, Romania**, 10-12 April **2009**, (oral presentation).
- 18. Roxana-Diana Pașca**, Oana-Alexandra Rusu, "Studies on the Behavior of Gold Nanoparticles at the Air-Water Interface", *9th National Symposium on Colloids and Surfaced Chemistry – Galați, Romania*, 29-30 May **2008**, (poster).
- 19. Roxana-Diana Pașca**, Oana-Alexandra Rusu, "Studies on the Behavior of Gold Nanoparticles at the Air-Water Interface", *5th International Conference "Students for Students"*, **Cluj-Napoca, Romania**, 18-20 April **2008**, (oral presentation).

2.3. PREMII

1. "The best poster" **Roxana-Diana Pașca**, "Thermodynamic Characterization of Mixed Lipids at the Air-Water Interface", *Processes in Isotopes and Molecules (PIM)*, **Cluj-Napoca, Romania**, 29 September-01 October 2011 (poster).
2. "The best poster for young scientists" **Roxana-Diana Pașca**, „Interaction of Silver Nanoparticles with some Molecules of Biological Interest", *10th International conference on colloids and surfaces chemistry*, **Galați, Romania**, 9-11 June, **2011** (poster).
3. "First place" for **Roxana-Diana Pașca**, "The Interfacial Behavior and Nanostructures of Cholesterol and Dimyristoyl Phosphatidylcholine Monolayers", *7th International Conference "Students for Students"*, **Cluj-Napoca, Romania**, 23-25 April **2010**, (poster)
4. "The best poster" for **Roxana-Diana Pașca**, "Studies on the Behavior of Gold Nanoparticles at the Air-Water Interface", *9th National Symposium on Colloids and Surfaced Chemistry – Galați, România*, 29-30 May **2008** (poster)

3. MEMBRU ÎN ECHIPA UNOR PROGRAME DE CERCETARE, ÎN TIMPUL PROGRAMULUI DE DOCTORAT

1. **Nume proiect:** "Nanostructuri multifuncționale formate din nanoparticule de aur sau argint" (NANOMED), perioada de derulare: **2011-2014**.
Director: Prof. Dr. Maria Tomoaia-Cotișel
2. **Nume proiect:** "Metode și tehnologii bazate pe medicina moleculară și celulară aplicate în chirurgia și tratamentul cancerului osos, a metastazelor osoase și a leziunilor osteo-articulare" (OSMOCEL), perioada de derulare: **2007-2010**.
Director: Prof. Dr. Maria Tomoaia-Cotișel

4.MEMBRU AL UNOR SOCIETĂȚI PROFESIONALE:

2010-Asociația de Termodinamică și Chimia Suprafețelor, **TECHIS, România**

2010- Sicietatea Română de Chimie, **SChR, România**

5.BURSE DE DOCTORAT

Octombrie 2010- Septembrie 2013, Programul Operational Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007-2013, cofinanțat prin Fondul Social European, în cadrul proiectului POSDRU/107/1.5/S/76841, cu titlul „Studii doctorale moderne: internaționalizare și interdisciplinaritate”.