



## **Diplomová práce**

# **Funkcionalizace nanovláknenných struktur katecholaminy**

*Studijní program:*

N0723A270001 Textilní inženýrství

*Autor práce:*

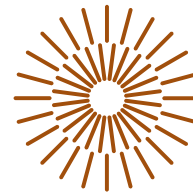
**Natália Kepičová**

*Vedoucí práce:*

Ing. Jakub Erben

Katedra netkaných textilií a nanovláknenných  
materiálů

Liberec 2023



## Zadání diplomové práce

# Funkcionalizace nanovlákných struktur katecholaminy

<i>Jméno a příjmení:</i>	<b>Natália Kepičová</b>
<i>Osobní číslo:</i>	T20000039
<i>Studijní program:</i>	N0723A270001 Textilní inženýrství
<i>Zadávající katedra:</i>	Katedra netkaných textilií a nanovlákných materiálů
<i>Akademický rok:</i>	2022/2023

### Zásady pro vypracování:

1. Seznámení se s danou problematikou.
2. Popis úvodu do problematiky katecholaminů, definování základních pojmů týkajících se nanovláken a metod jejich výroby. Shrnutí popisu možných forem modifikací povrchů polymerních nanovláken.
3. Rešerše stavu současné techniky v oblasti výzkumu funkcionalizace nanovláken katecholaminy.
4. Celkové shrnutí stavu problematiky výzkumu funkcionalizace nanovláken za použití katecholaminů. Uvedení další perspektivy a možnosti budoucího vývoje v dané oblasti.
5. Teoretický návrh a popis experimentu nebo několika experimentů, které by mohly přispět k rozšíření poznání v dané oblasti.

*Rozsah grafických prací:* dle potřeby dokumentace  
*Rozsah pracovní zprávy:* 40-60 dle potřeby  
*Forma zpracování práce:* tištěná/elektronická  
*Jazyk práce:* Slovenština

### **Seznam odborné literatury:**

- [1] FAURE, Emilie et al. 2013. Catechols as Versatile Platforms in Polymer Chemistry. *Progress in Polymer Science*. **38**(1), 236–270. ISSN 0079-6700. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.06.004>
- [2] d'ISCHIA, Marco et al. 2014. Polydopamine and Eumelanin: From Structure–Property Relationships to a Unified Tailoring Strategy. *Accounts of Chemical Research*. **47**(12), 3541-3550. ISSN 1520-4898. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/ar500273y>
- [3] KIM, Su Jun a Won Ho PARK. 2020. Polydopamine-and PolyDOPA-Coated Electrospun Poly(Vinyl Alcohol) Nanofibrous Membranes for Cationic Dye Removal. *Polymer Testing*. **89**, 106627. ISSN 0142-9418. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106627>
- [4] LEE, W., J. U. LEE a J.-H. BYUN. 2015. Catecholamine Polymers as Surface Modifiers for Enhancing Interfacial Strength of Fiber-Reinforced Composites. *Composites Science and Technology*. **110**, 53-61. ISSN 0266-3538. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2015.01.021>
- [5] LYU, Qinghua et al. 2017. A One Step Method for the Functional and Property Modification of DOPA Based Nanocoatings. *Nanoscale*. **9**(34), 12409–12415. ISSN 2040-3372. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/C7NR05293F>

*Vedoucí práce:* Ing. Jakub Erben  
Katedra netkaných textilií a nanovlákných materiálů

*Datum zadání práce:* 1. listopadu 2022  
*Předpokládaný termín odevzdání:* 2. června 2023

L.S.

doc. Ing. Vladimír Bajzík, Ph.D.  
děkan

doc. Ing. Jiří Chvojka, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Liberci dne 1. listopadu 2022

## Prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci jsem vypracovala samostatně jako původní dílo s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé diplomové práce a konzultantem.

Jsem si vědoma toho, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu Technické univerzity v Liberci.

Užiji-li diplomovou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědoma povinnosti informovat o této skutečnosti Technickou univerzitu v Liberci; v tomto případě má Technická univerzita v Liberci právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Současně čestně prohlašuji, že text elektronické podoby práce vložený do IS/STAG se shoduje s textem tištěné podoby práce.

Beru na vědomí, že má diplomová práce bude zveřejněna Technickou univerzitou v Liberci v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů.

Jsem si vědoma následků, které podle zákona o vysokých školách mohou vyplývat z porušení tohoto prohlášení.

## **POĎAKOVANIE**

Touto formou by som rada vyjadrila svoje poďakovanie vedúcemu diplomovej práce Ing. Jakobovi Erbenovi za jeho cenné rady, odborný prínos a obohacujúce poznatky. Veľká vďaka patrí aj rodine a známym za trpezlivosť, ústretovosť a morálnu podporu.

## **ABSTRAKT**

Diplomová práca sa zaoberá témou nanášania povlakov na báze katecholamínov za účelom funkcionalizácie nanovlákných materiálov. Daná metóda má mnoho spôsobov prevedenia a rôznorodých potenciálnych aplikácií. Prvá časť je venovaná opisu mechanizmov ukotvenia jednotlivých štruktúr na povrchoch rôznorodých substrátov. Následne sú tieto poznatky doplnené konkrétnymi príkladmi aplikácii z vedeckej praxe so zámerom zjednotiť zistenia o polymerizácii katecholamínov predovšetkým dopamínu. Druhá časť práce opisuje spôsoby výroby materiálov s uplatnením polydopamínu ako funkčnej zložky. Na záver sú uvedené niektoré trendy v oblasti výskumu a možné alternatívy aplikovania polydopamínových vrstiev v podobe návrhov ďalších experimentov.

**Kľúčové slová:** katecholamíny, funkcionalizácia, polydopamín, nanovláčna, povlakovanie

## **ABSTRACT**

The diploma thesis deals with the topic of applying coatings based on catecholamines for the purpose of functionalizing nanofibrous materials. This method has many implementations and diverse potential applications. The first part is devoted to the description of the anchoring mechanisms of individual structures on the surfaces of various substrates. Subsequently, this knowledge is supplemented with specific examples of applications from scientific practice with the intention of unifying the findings on the polymerization of catecholamines, especially dopamine. The second part of the thesis describes the methods of producing materials using polydopamine as a functional component. At the end, some research trends and possible alternatives for applying polydopamine layers are presented in the form of proposals for further experiments.

**Key words:** catecholamines, functionalization, polydopamine, nanofibers, coating

## OBSAH

ÚVOD.....	8
ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK.....	9
1 FUNKCIONALIZÁCIA POVRCHOV.....	11
1.1 Povrchové úpravy polymérnych vlákien.....	11
1.2 Povrchová funkcionalizácia- nanovlákných vrstiev.....	15
2 KATECHOLAMÍNY .....	18
2.1 Chemická definícia.....	18
2.2 Spôsoby ukotvenia k povrchu.....	23
2.3 Materiály na báze katecholamínov.....	34
2.4 Štruktúra a tvorba - Melaníny.....	36
3 NANOVLÁKNA.....	40
3.1 Spôsoby výroby .....	40
3.2 Elektrické zvlákňovanie .....	41
4 APLIKOVANIE VO VÝSKUMOCH.....	43
4.1 Nanášanie polydopamínových povlakov.....	43
4.2 Použité činidlá-príklady.....	51
4.3 Dvojstupňové metódy a funkcie PDA ako medzivrstvy .....	52
5 VLASTNOSTI MODIFIKOVANÝCH MATERIÁLOV .....	55
5.1 Použitie nukleofilných prísad .....	57
5.2 Vplyv procesných parametrov .....	58
5.3 Uplatnenie v tkanivovom inžinierstve.....	60
6 AKTUÁLNE SMEROVANIE .....	67
6.1 Smerovanie výskumov .....	67
6.2 Dopamínová autopolymerizácia v hydrogélach .....	70
6.3 Kyselina trieslová.....	72
7 NÁVRHY EXPERIMENTOV.....	77
7.1 Inkorporačná kapacita katecholamínových povlakov na nanovlákných štruktúrach.....	77
7.2 Polydopamínové povlaky nanovlákných štruktúr pre dodávanie liečiv .....	79
7.3 Funkcionalizácia polymérnych nanovlákných sorbentov katecholamínmi pre extrakciu v analytickej chémii .....	81
8 ZÁVER .....	84
9 BIBLIOGRAFIA.....	85

## ÚVOD

Funkcionalizácia povrchov pomocou vytvárania povlakov je v dnešnej dobe veľmi frekventovanou témou naprieč materiálovým výskumom. Jedným z veľmi sľubných prístupov k ich tvorbe je využitie skupín chemických látok nazývaných katecholamíny. Táto skupina látok s unikátnymi vlastnosťami je veľmi obľúbená v kombinácii s polymérnymi vláknami, ktorým napomáha zlepšiť ich už aj tak unikátne vlastnosti smerom k reálnemu využitiu v tkanivovom inžinierstve, analytickej chémii alebo senzorike.

Zameranie sa na použitie katecholamínových zlúčenín prebieha vo vedeckom svete už viac ako 20 rokov. Priekopníkom vo využití polydopamínového povlaku bola publikácia kolektívu Lee a Messersmith z roku 2007 (Lee *et al.*, 2007). Vo svojej štúdii opísali a optimalizovali ideálne využitie dopamínového roztoku pre vytvorenie funkčnej vrstvy. Tento akt spustil mnoho ďalších výskumných ciest k zdokonaleniu procesu a následnej efektívnej aplikácii. Táto metóda sa dostala do popredia keďže spomedzi dostupných metód funkcionalizácie povrchov vytváraných za mokra, len málo z nich umožňuje vytvoriť funkčný a rovnomerný povlak na veľkom množstve substrátov a to v jednom kroku reakcie. (Ball *et al.*, 2012)

Napriek tomu, že spôsob samopolymerizácie povrchu našiel mnoho bádateľov a obmien v experimentoch, presná definícia mechanizmu usádzania a opísanie reakcií s tým súvisiacich neboli vedecky podložené. K dispozícii sú odhady vytvárania jednotlivých väzieb a interakcií, ktoré sú vedeckou obcou všeobecne uznávané. Chýbajúca presná definícia so sebou nesie potenciál nových odhalení a posunu vo využití jednotlivých vlastností polydopamínov.

Táto práca prináša veľmi dôkladné zhrnutie súčasného stavu poznania v oblasti katecholamínov a ich využitie v kombinácii s nanovlákanými štruktúrami. Následný text poukazuje na bližšie detaily doterajších zistení o katecholamínoch, o tom aké majú vlastnosti a akou formou sú aplikované v súvislosti s nanovlákanými štruktúrami. Hlavným zámerom tohto prehľadu je jednak detailný pohľad do problematiky a ďalej na základe týchto informácií priniesť návrh ďalších možných experimentov, ktoré pomôžu posunúť poznanie a doplniť informácie chýbajúce na vedeckom poli.



## ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK

BTZ	bortezomib
COOH	karboxylová skupina
CuSO <sub>4</sub>	síran meďnatý
DA	dopamín
DHI	5,6-dihydroxyindol
DHICA	5,6-dihydroxyindol-2-karboxyl acid
DMA	metakrylamid
DOPA	3,4-dihydroxyfenylalanín
EDX	elektrónová spektroskopia
GO	grafén oxid
HA	hydroxyapatit
HEP	heparín
HPLC	vysokoúčinná kvapalinová chromatografia
HSA	ľudský sérový albumín
HOPO	2-metoxy-3-hydroxy-4-pyridinón
KMnO <sub>4</sub>	manganistan draselný
LBL	„layer by layer“
MEL	eumelanín
MSC	mezenchymálne kmeňové bunky
MOFs	metalo-organický komplex
NADOPAMe	N-Ac-3,4-dihydroxyfenylalanín metylester
NaIO <sub>4</sub>	jodistan sodný
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	peroxodisíran amónny
NE	norepinefrín
NH <sub>2</sub>	amínová skupina
OH	hydroxylová skupina
PAH	polyalylamínhydrochlorid
PA 6	polyamid 6
PBT	polybutyléntereftalátu

PCL	polykaprolaktán
PEG	polyetylénglykol
PDA	polydopamín
pK <sub>a</sub>	disociačná konštanta
PVA	polyvinylalkohol
PEI	polyetylénimín
PNE	polynorepinefrín
PVDF	polyvinylidénfluorid
SAM	„self assembly“
SEM	rastrovacía elektrónová mikroskopia
TA	kyselina trieslová
TEPA	tetraetylénpentamín
XRD	röntgenová difrakcia
XPS/ESCA	röntgenová fotoelektronová spektroskopia

# 1 FUNKCIONALIZÁCIA POVRCHOV

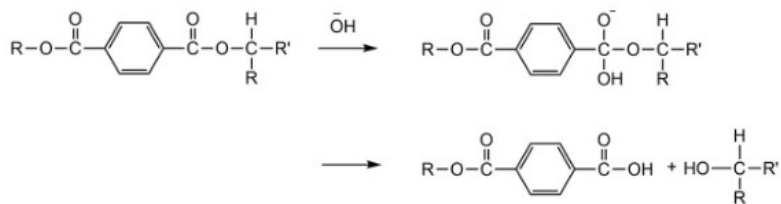
Vláknenné produkty rôznych druhov nachádzajú mnohostranné uplatnenie v praxi. Aj keď sa materiál vhodne zvolí pre konkrétnu aplikáciu v procese výroby nastávajú situácie ktoré si vyžadujú modifikáciu povrchu pre docielenie požadovaných vlastností. Platí to pre samotné vlákna ako aj vláknenné vrstvy. Úprava povrchov je dlho známy a používaný proces ktorý zahŕňa viaceré metódy prevedenia. Hlavným zámerom je zmena vlastností povrchu. Napríklad získanie hydrofility alebo naopak. Často cieľom je zmena morfológie povrchu. Všeobecne všetky aplikácie smerujúce k vylepšeniu povrchových vlastností materiálov sa dajú zhrnúť pod označenie funkcionalizácie povrchov. Tieto funkcionalizačné procesy vo svojom dôsledku vedú, napríklad v tkanivovom inžinierstve, k zvýšeniu biokompatibility a bunkovej adhézie, alebo k zvýšeniu afinity povrchu vlákien k špecifickým molekulám vo farmácii či filtračných procesoch. K historicky známym spôsobom úpravy povrchu je chemická cesta modifikácie za mokra, súčasne existovali techniky suchého nanášania chemikálií, či fyzikálne metódy. Do popredia sa v posledných rokoch dostáva modifikácia ozónom alebo plazmou. Každá z metód má mnoho obmien a variácií. Je bežné že sa pre funkcionalizáciu zvolí kombinácia viacerých techník. V tomto procese stále viac dominujú trendy využitia ekologicky bezpečnejších variant úprav.

## 1.1 Povrchové úpravy polymérnych vlákien

K aktivácii povrchu polymérnych vlákien existuje mnoho postupov využívajúcich súčasné technológie. Zahŕňa to mokré chemické prístupy, biochemické, fyzikálne, či fyzikálno-chemické. S dôrazom na ekológiu sa čoraz viac dostávajú do popredia modifikácie bez použitia škodlivých látok. Mokré chemické ošetrenie je najstarším prístupom úpravy povrchov a pokrýva mnoho metód modifikácií. Patrí sem botnanie, leptanie, rozpúšťanie či vytváranie medzivrstiev za účelom priľnavosti. Použitie chemických prvkov závisí od druhu substrátu s ohľadom na výstupný efekt. K mokrým úpravám možno zaradiť hydrolýzu, oxidáciu, halogenizáciu, komplexáciu či tvorbu samostatných povrchových vrstiev. (Gleissner, Landsiedel, *et al.*, 2022)

Hydrolýza sa dosahuje alkalickým či enzymatickým ošetrením povrchu. Alkalické úpravy sú vhodné pre materiály esterových skupín. Účelom je oslabiť povrch vlákien degradáciou. Ako modifikačné prostriedky slúži koncentrácia alkálií a samotná kinetika reakcie. Hydrolýza môže prebiehať za pomoci enzýmov. K modifikácii sa využívajú enzýmové proteíny ako biokatalyzátory. Výhodou tohto typu je možnosť vodnej hydrolýzy s mechanizmom riadenej degradácie materiálu. Výsledkom je drsnosť a prítomnosť funkčných skupín na povrchu. Klasickou hydrolýzou dochádza k zníženiu hmotnosti materiálu kvôli nožnej depolymerizácii čo sprevádza i zníženie priemeru vlákna. Podstatným prínosom je zvýšenie členitosti povrchu čo má za následok lepšiu zmacovosť. Súbežným možným efektom je strata pevnosti v ťahu. Ukážka reakcie je znázornená na obrázku č. 1.

Hydrolázy sa používajú s dôrazom na štruktúru polyméru. Napríklad esterázy slúžia na štiepenie esterových väzieb. Pri polyamide sa používa peptidáza ktorá degraduje peptidové väzby. Nukleofilná adícia zas prebieha vďaka nukleozidázy. Príkladom je štiepenie amidovej väzby, kde účelom je vznik aminových a karboxylových skupín. Tieto procesy sú závislé od teploty, prítomného pH, koncentrácie, času. Výsledky ukazujú že enzymatická hydrolýza sa viac sústreďuje na povrchu vlákien aj vďaka vyššej molekulovej hmotnosti samotného enzýmu. Všeobecne sa považuje za miernejšiu metódu povrchovej úpravy. (Čorak *et al.*, 2022)



Obr. č. 1: Hydrolýza esterovej väzby alkalickým spracovaním. (Gleissner, Landsiedel, *et al.*, 2022)

Oxidácia povrchov prebieha pôsobením oxidačných činidiel (napríklad kyseliny dusičnej, kyseliny chrómovej, manganistanu draselného). Činidlá sa redukujú zvyšovaním hladiny elektrónov čo vedie k oxidácii materiálov prevažne so slabými väzbami. Vznikajú karboxylové a karbonyloveé skupiny na povrchu vlákien. Pomocou kyseliny sa dá upraviť povrch aj samotným leptaním. Špeciálnym prípadom je použitie kyseliny sírovej kedy dochádza k sulfonizácii. K mokrym procesom úpravy patrí aj halogenácia, kedy sa atóm vodíka nahradí halogénmi. Často sa využíva napríklad chlorácia. Benefit tejto úpravy je tiež zníženie kontaktného uhla s vodou čiže zvýšenie zmačavosti. (Gleissner, Landsiedel, *et al.*, 2022)

Komplexácia je vhodná úprava pre polyméry obsahujúce kyslík, síru, dusík, alebo fosfor. Metóda zahŕňa aktiváciu povrchu pomocou Lewisových kyselín, ktoré vyvolávajú acidobázické interakcie v polyméroch. Táto forma úpravy pôsobí najmä na amorfné časti polyméru. Je potrebné aby polymérne vlákna obsahovali neväzbové elektrónové páry. Aby bola modifikácia účinná je nutné aby sa tieto skupiny podieľali na vnútro a medzimolekulových interakciách ako sú vodíkové väzby či disperzné sily. Potlačením týchto väzieb sa naruší kryštalinita polymérov čo smeruje k vytváraniu dutín a pórov. (Gleissner, Biermaier, *et al.*, 2022)

Populárnym spôsobom aktivácie vlákenných povrchov je aktivácia plazmou. Existuje viacero spôsobov vytvorenia prostredia plazmy. Podstata funguje na princípe aplikovania vysokého napätia na plyn pod nízkym tlakom. Jestvuje delenie podľa teploty v závislosti na lokálnej termodynamickovej rovnováhe ako určujúcim stav s rovnovážnym rozložením častíc. To čo si vyžaduje vysokú teplotu zároveň znevýhodňuje túto technológiu pri použití na teplotne citlivé materiály. V prípade studenej plazmy sa teplota udržiava približne pod 50°C čo je pre mnohé produkty prijateľnejšie. Ďalšie delenie určuje výška pracovného tlaku. Plazma je buď nízkotlaková, alebo použiteľná pri atmosférickom tlaku.

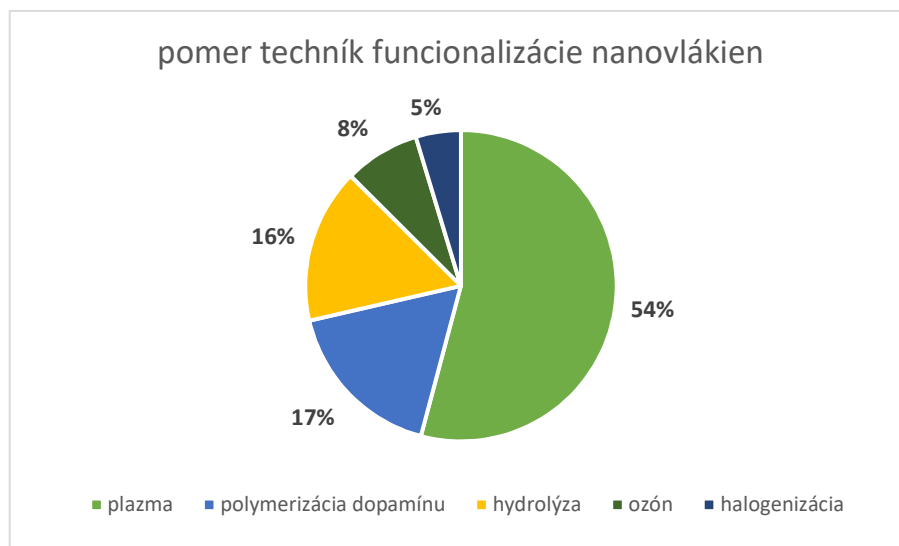
Špeciálny typ plazmy pri atmosférickom tlaku je dielektrický bariérový výboj. Účinnosť na modifikáciu povrchov je spojená aj s typom použitého plynu pre generáciu plazmy. Elektróny plazmy prenášajú energiu v plynach na vibračnú excitáciu molekúl substrátu. Väčšina z následných procesov vedie k tvorbe voľných radikálov a nenasýtených organických častí, dochádza k sieťovaniu, štiepeniu reťazcov a tvorbe plynov. Výsledný efekt je ovplyvnený frekvenciou budenia v závislosti od substrátu ako aj časom pôsobenia. Samotný plyn pritom ovplyvní druh reakcie s materiálom, napríklad či dôjde k polymeračnej reakcii alebo plazmovej ablácii. (Gleissner, Landsiedel, *et al.*, 2022)

Požadovanú modifikáciu predstavuje aktivovanie povrchu vlákna pripojením funkčnej skupiny do polyméru. Pri samotnom procese však môže dochádzať aj k štiepeniu hlavných reťazcov disociáciou väzieb medzi uhlíkmi, čo je počiatok degradácie materiálu. Radikály reťazca ktoré vzniknú štiepením sa môžu nanovo rekombinovať, reťazec sa môže rozvetviť a zosieťovať. Štiepenie dominantných uhlíkových väzieb zväčša nie je prevažujúcou reakciou pri plazmovom spracovaní. Výber plynu určuje typ funkčných skupín získaných pri aktivácii plazmou. Príkladom sú väzby obsahujúce kyslík, dusík, fluór. Plazmové ošetrenie kyslíkom a amoniakom vytvára karboxylové a aminové skupiny. (Yoo, Kim and Park, 2009)

V počiatočnej fáze pôsobenia plazmy je dominantná funkcionalizácia povrchu, čo vedie k zvýšeniu počtu funkčných skupín. Naopak leptanie povrchu ku ktorému dochádza po dlhšej časovej expozícii má za dôsledok abláciu (odňatie) novovzniknutého funkcionalizovaného povrchu, čím sa počet funkčných skupín začne znižovať. Pre vytvorenie čo najväčšieho počtu nových funkčných skupín sa ukazuje krátke pôsobenie plazmy ako výhodnejšia cesta. Každé ošetrenie má svoj optimálny rozsah pôsobenia a silu podľa cielennej intenzity zmien na povrchu. K samotnému leptaniu môže dochádzať odstraňovaním materiálu a to dôsledkom pôsobenia vysoko energetických a reaktívnych druhov. Pričom narušenie môže mať fyzikálny alebo chemický charakter. Naštiepené reťazce reagujú na produkty degradácie (oxid uhoľnatý/uhličitý, voda) čo môže spôsobiť odňatie celej časti reťazca. Hlavnou známkou je zmena topológie povrchu, ako aj úbytok hmotnosti v závislosti na čase. So zvyšujúcim sa časom ošetrenia dochádza k nárastu rýchlosti leptania. Výsledkom je zdrsnenie povrchu čo sa výraznejšie prejavuje v amorfných častiach polymérov. Zánik amorfných oblastí leptaním vedie k zvýšeniu výslednej kryštalinity povrchu. Pri dlhej časovej expozícii leptania dochádza k postupnému zníženiu rýchlosti reakcie, k čomu môže prispievať aj opätovné ukladanie molekulárnych fragmentov na povrch. (Pillai and Thomas, 2023)

Plazmová úprava napomáha k zmáčaniu aj vďaka tvorbe polárnych skupín na povrchu, kontaktný uhol je znížený na minimum vďaka zvýšeniu povrchovej energie po úprave plazmou. Prvenstvo v tejto modifikácii majú plyny obsahujúce kyslík alebo fluór. Na zmáčavosť má vplyv aj tlak plynu a frekvencia výbojov. Účinok modifikácie povrchu s ohľadom na zmáčanie je časovo závislý a postupne dochádza k jeho vytrácaniu v dôsledku pohybov mobilných polárnych skupín v polymére. Vďaka tvorbe radikálov počas ošetrenia plazmou molekuly polymérov prechádzajú stavebnými variáciami a to štiepením reťazca, pripájaním funkčných skupín, zosieťovaním. Vetvenie a štiepenie

vedie k širšiemu rozloženiu molekulevej hmotnosti. Jedným z cielených benefitov všetkých modifikácii je hlavne zvýšená drsnosť povrchu čo vedie k lepšej adsorpcii molekúl vody. (Čorak *et al.*, 2022) Zastúpenie jednotlivých techník funkcionalizácie nanovlákných vrstiev sú znázornené na grafe č.1. v percentuálnom pomere. Prehľad pokrýva vedecké články ktoré referujú použitie jednej z dole uvedených techník za účelom modifikácie povrchu nanovlákn. Dátový prehľad zahŕňa obdobie za posledných 10 rokov. Najväčšie zastúpenie má funkcionalizácia plazmou, hydrolýza zastáva len o jedno percento vyšší podiel ako polymerizácia dopamínu, najmenší podiel predstavuje halogenizácia.



Graf č. 1: Podiel vedeckých článkov podľa uvedených funkcionalizačných techník za obdobie rokov 2013 až 2022. Zo zdrojového portálu Science direct. (<https://www.sciencedirect.com/>)

K iným možným úpravám patrí úprava povrchu plameňom, ktorá je ale je vhodná len pre teplotne odolnejší materiál. Ďalšia z metód uplatňovaných v textilnom priemysle je ošetrovanie ozónom. Ozón pôsobí ako silné oxidačné činidlo. Používa sa vo vodnej forme pre mokré procesy a plynný pre ošetrovanie v atmosfére. Podobne ako pri plazme, pôsobením dochádza k tvorbe radikálov ktoré vytvárajú COOH a OH skupiny. Dochádza tiež k leptaniu povrchu vlákien a vytváraniu drážok či dutín. Oxidácia polyméru a odstránenie povrchu spôsobuje zároveň zníženie pevnosti v ťahu daného substrátu. Naopak za zvýšením pevnosti zasa stojí účinok zosieťovania. Úprava povrchu sa dá docíliť pomocou radiačnej metódy. Procesy krátkodobého funkcionalizovania prispievajú za účelom zlepšenia rozhraní dvoch rôznych materiálov napríklad pri vytváraní kompozitných materiálov a nanosových vrstiev. (Gleissner, Landsiedel, *et al.*, 2022)

Princípom zvýšenia priľnavosti povrchu je pridanie viacerých väzobných možností. Najčastejším cieľom aktivácie povrchu je vytvorenie adhézneho vrstvy za účelom lepšieho zmáčania povrchu. Prostredníctvom chemických vplyvov možno riadiť potrebné

chemické reakcie na rozhraní povrchov, čím sa zabezpečí lepšia difúzia polymérnych reťazcov a umocní sa hrúbka vrstvy rozhrania. K tomu sa často využívajú mokré chemické spôsoby. Často to prebieha v kombinácii s predprípravou povrchu a teda sa uplatňuje viacero súbežných postupov. Príkladom využitia cielenej aktivácie povrchu je napríklad proces metalizácie. Tento jav je sprostredkovaný vďaka amínovým skupinám na povrchu ktoré sú schopné chelácie s iónmi kovov. Následne slúžia ako katalyzátor procesu metalizácie. K skupine postupov zlepšenia adhézie patrí aj depozícia a samopolymerizácia dopamínu a povrchoch polymérov. Polydopamínový povlak slúži ako spojka ktorá je ďalej reaktívna skrz primárne aminové alebo tiolové skupiny. Medzi tieto úpravy patrí aj anodická polymerizácia dopamínu. (Zimmerer *et al.*, 2022)

Samostatne usporiadané monovrstvy uvádzané pod anglickou skratkou SAM z prekladu „self-assembling monomers“. Sú to organické asembláže vytvorené adsorpciou molekulárnych zložiek z roztoku alebo plynnej fázy na povrchoch pevných látok alebo v pravidelných usporiadaniach na povrchu kvapalín. Adsorbáty sa spontánne usporiadajú do kryštalických alebo semikryštalických štruktúr. Molekuly alebo ligandy, ktoré vytvárajú SAM, majú chemickú funkčnosť alebo hlavovú skupinu so špecifickou afinitou k substrátu. V mnohých prípadoch máva hlavová skupina tiež vysokú afinitu k povrchu a vytláča z povrchu adsorbované adventívne organické materiály. Pri tejto metóde koncové funkcionalizované molekuly alkéntiolu tvoria usporiadané monovrstvy na povrchoch ušľachtilých kovov. Väzba sa vytvára medzi kovom a tiolátom. Molekuly na povrchoch materiálu zažívajú iné prostredie ako tie v objeme. Majú iné voľné energie, elektronické stavy, reaktivitu, pohyblivosť a štruktúru. Samousporiadané monovrstvy predstavujú pohodlný, flexibilný a jednoduchý systém na prispôsobenie medzifázových vlastností kovov, oxidov kovov a polovodičov. Tvoria sa tak nanoštruktúry s množstvom užitočných vlastností. Hrúbka je zvyčajne 1-3 nm. Zloženie molekulárnych zložiek SAM určuje atómovú kompozíciu vrstvy kolmo na povrch. (Love *et al.*, 2005)

Koncepcia plazmovej polymerizácie sa rovnako využíva k sfunkčneniu povrchu. Predstavuje nanášanie tenkých polymérnych vrstiev na substrát prostredníctvom aktivácie prekursorových molekúl polymérov nesúcich funkčné skupiny alebo iné reaktívne druhy v plazme. (Gleissner, Landsiedel, *et al.*, 2022)

## 1.2 Povrchová funkcionalizácia- nanovlákných vrstiev

V prípade nanovlákných polymérnych substrátov môže nanášanie funkčných vrstiev predstavovať deformáciu štruktúry produktu vzhľadom na samotný charakter netkaných materiálov. Preto sa za účelom depozície často využívajú metódy úpravy pomocou plazmy. Fyzikálne naprašovanie má výhodu v minimalizovaní možnosti znečistenia vrstvy. Výhody použitia plazmovej modifikácie sú aj v rovnomernom a kompaktnom povlaku a v silnejšom napojení na substrát. (Wei *et al.*, 2008)

Mnohé syntetické degradovateľné polyméry sú vhodné pre technológiu elektrospiningu. Dá sa z nich vytvoriť vláknitá štruktúra s kontrolovateľnou morfológiou vlákien, nastaviteľnými mechanickými vlastnosťami, flexibilitou a tvarovou dostupnosťou.

Použitie biokompatibilných látok v tkanivovom inžinierstve je jednou z hlavných podmienok tvorby matrice. Pre zidealizovanie povrchových vlastností sa musia modifikovať. Povrchové modifikácie plazmou, radiačné metódy, mokré chemické leptanie majú svoje obmedzenia. Jedným z nich je náročnosť modifikovania vnútorných pórov, kvôli sťaženému prenikaniu do vnútornej štruktúry nanovláknenného útvaru. Napríklad pri použití plazmy môže skôr dôjsť k mechanickej a štruktúrnej deformácii kvôli štiepeniu reťazcov, preto sa proces musí segregovať na viacero stupňov alebo sa zavádzajú špeciálne mechanické postupy. Metóda povlakovania proteínmi vzhľadom na svoju šetrnosť nachádza vhodné uplatnenie v univerzálnej funkcionalizácii povrchov. (Rim *et al.*, 2012)

Čiastočná povrchová hydrolýza biodegradovateľných alifatických polyesterových filmov a skeletov v kyslom alebo zásaditom stave sa široko využíva na modifikáciu povrchovej zmáčavosti alebo na vytvorenie nových funkčných skupín. Postup je založený na náhodnom chemickom štiepení esterových väzieb na hlavných polymérnych reťazcoch umiestnených na samotnom povrchu, čo vedie k povrchovej tvorbe karboxylových a hydroxylových skupín z degradovaných, ale vo vode nerozpustných fragmentov polymérov. Keďže plazmová úprava nanovláknovej sieťoviny nemôže účinne modifikovať povrch hlboko uložených nanovláknien v sieťovine z dôvodu obmedzenej hĺbky prieniku plazmy do nanopórov, metódy mokrého chemického leptania môžu ponúknuť flexibilitu pri modifikácii povrchu hrubých nanovláknových sietí. Pri čiastočnej hydrolýze je potrebné venovať pozor dĺžke reakcie ako aj podmienkam. (Yoo, Kim and Park, 2009)

Povrchová štepная polymerizácia sa iniciuje pomocou plazmy alebo UV žiarenia za účelom vzniku voľných radikálov pre polymerizáciu. Povrch polyméru sa najskôr naruší a neskôr nechá nanovo spolymerizovať pridaním ďalších funkčných látok. Jednou z ďalších možností je začlenenie povrchovo aktívnych látok do priamo do polymerizačnej zmesi čím sa zabezpečí súbežné elektrické zvlákňovanie aktívnych látok, ktoré sa dajú následne riadiť na povrchu. (Yoo, Kim and Park, 2009)

Depozícia po vrstvách v literatúre označovaná ako LBL z prekladu „Layer-by-layer“ je metóda spoliehajúca sa na absorpciu zložiek povlaku na rozhraní tuhej látky a kvapaliny. Je to podobná metóda ako usádzanie polydopamínu či iných polyfenolických molekúl. Rozdiely sú v spôsobe pôsobenia, vlastnostiach a univerzálnosti substrátu. Samopolymerizácia dopamínu je metóda bez syntézy kedy sa povlak vytvára v jednom kroku bez ohľadu na substrát. Polyméry používané v metódach LBL sa často syntetizujú špeciálne s ohľadom na použitie, procesy tohto typu nanášania vrstvy zahŕňajú mnoho cyklov. Polymerizácia PDA začína od monoméru a prebieha *in situ*. Sú vhodné pre aplikáciu 3D scaffoldov vďaka nízkej molekulovej hmotnosti dopamínového stavebného bloku. Naproti tomu polyméry používané pri montáži po vrstvách majú zvyčajne vysokú molekulovú hmotnosť, čo predstavuje komplikáciu pri difundácii s malými pórnymi scaffoldov. Hrúbku týchto vrstiev možno ľahko regulovať podľa počtu cyklov depozície. Nanášanie PDA je však proces s obmedzenou hranicou nasýtenia a vlastnou kinetikou procesu. Metóda PDA nevyžaduje výraznú prípravu povrchu v porovnaní s LBL. Oba



možnosti tvorby nánosov sa môžu vzájomne dopĺňať. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018) Metóda depozície LBL je však viacstupňový a časovo náročný proces, ktorý si vyžaduje odstránenie neadsorbovaných polyelektrolytov odstredením po ukončení každého kroku adsorpcie. Každý krok adsorpcie vedie k prírastku hrúbky len niekoľko nanometrov, čo závisí od iónovej sily roztoku obsahujúceho polyelektrolyt. (El Yakhlifi and Ball, 2020)

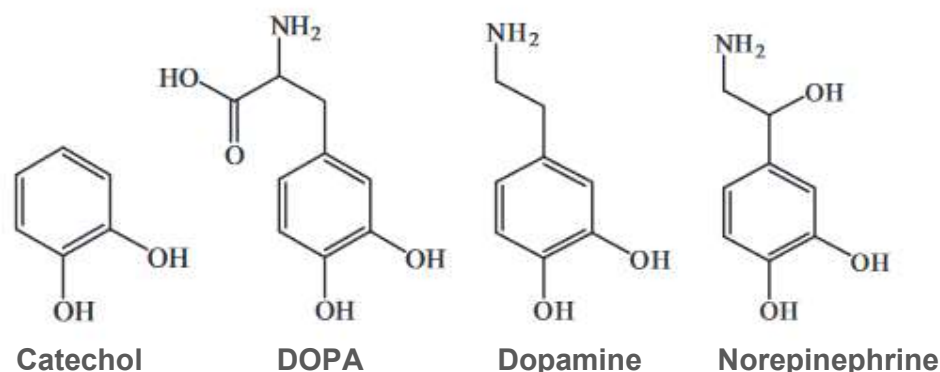
Mechanizmus adhézie a vlastnosti polydopamínu sú už dlhšiu dobu podrobnejšie skúmané. Katecholamíny sa môžu priamo nanášať na povrchy kde môžu pôsobiť ako rozhranie vrstvy pre postmodifikáciu, alebo slúžiť ako povrchová zložka predurčujúca polyméry k ďalšej modifikácii. (Yang *et al.*, 2015) Medzičasom sa téma katecholamínov v povrchovej funkcionalizácii rozrástla. Súčasný vedecký trh poskytuje mnoho variant využitia ich výhodných vlastností.

## 2 KATECHOLAMÍNY

V ľudskom tele dobre známe látky často prezentované ako hormóny a neurotransmitery. V súvislosti s medicínou sa často vyskytuje označenie ako stresové hormóny, pretože koordinujú mnoho životných funkcií. Najznámejšími sú dopamín, adrenalín a noradrenalín. Katecholamíny však majú oveľa širší zámer ako riadenie reakcií v tele živočíchov. Všeobecný názov zahŕňa celú skupinu biogénnych aminorov. Tie sa nachádzajú prakticky vo všetkých potravinách vo veľmi malých množstvách. V jedle je skôr možné detekovať látky ktoré slúžia ako prekuzory pre metabolizmus katecholamínov následne prebiehajúci v organizme za prítomnosti enzýmov. Rastliny však obsahujú štrukturálne podobné látky ktoré ovplyvňujú ich funkcie ako sú vývoj a rast. Hoci sa jednotlivé mechanizmy a procesy súvisiace s katecholamínmi môžu vzájomne líšiť, tieto látky podliehajú dôsledným vedeckým výskumom so zámerom ich využiteľnosti v biomedicíne.

### 2.1 Chemická definícia

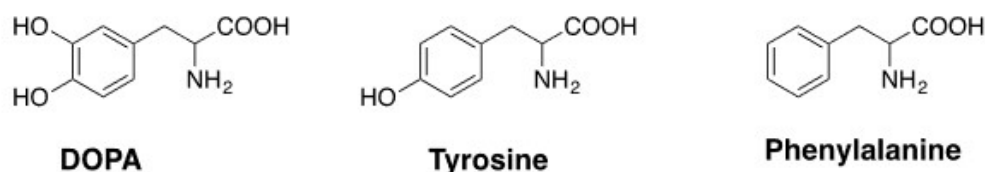
Katecholamíny patriace do skupiny katecholov sú z hľadiska chemickej štruktúry charakterizované dvoma susediacimi hydroxilovými skupinami (OH) na benzénovom jadre. Vznikajú postranslačnými modifikáciami zvyškov tyrozínu katalyzovaných enzýmom tyrozinhydroxylázou. Ako to vyjadruje plný názov charakteristickej štruktúry okrem katecholovej časti je tu prítomná aj aminoskupina (NH<sub>2</sub>). Výskyt katecholov v prírode je prirodzený. Na obrázku č. 2 je znázornený tvar najznámejších derivátov používaných k funkcionizácii. (Goldstein, 2010)



Obr. č. 2: Štrukturálne vzorce katecholu a jeho derivátov: katechol, DOPA, dopamín, norepinefrín (Faure *et al.*, 2013)

Tyrozín je aminokyselina predstavujúca základný prvok z ktorého sú katecholamíny syntetizované. Obsahuje karboxylovú skupinu (COOH) a NH<sub>2</sub> naviazanú na fenolovom jadre. U živočíšnych organizmov je prísun tyrozínu zabezpečený z potravy. V ľudskom tele môže prebiehať vznik tyrozínu aj hydroxyláciou fenylalanínu v pečeni. Jedná sa o reverzibilnú reakciu. Tyrozín môže následne rôznorodo metabolizovať. Slúži ako

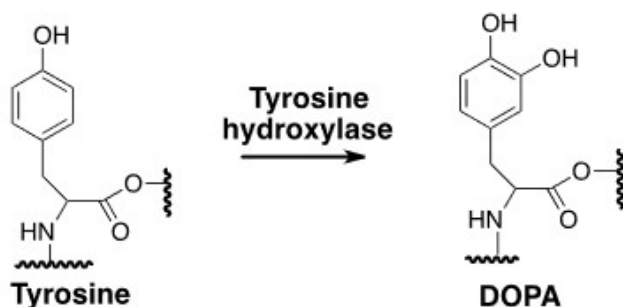
východiskový prvok pre biosyntézu hormónov, neurotransmitterov, alkaloidov, koenzýmov a pigmentov. Molekuly katecholamínov sú vďaka svojim koncovým skupinám pomerne ľahko prístupné reakciám rôzneho druhu, čo stojí za schopnosťou priľnavosti k povrchom. Prejavujú silnú adhéziu k organickým aj anorganickým substrátom. V praxi majú využitie pri syntéze v mnohých odvetviach najmä však potravinárstve, farmácii, agrochémii. Aplikujú sa zvyčajne ako inhibítory polymerizácie a stabilizačné prísady. (Faure *et al.*, 2013)



Obr. č. 3: Rozdiely v štruktúrach DOPA, tyrozínu a fenylalanínu (Broadley, 2010)

Hydroxyláciou tyrozínu a jeho zvyškov vzniká 3,4-dihydroxyfenylalanín zaužívaný pod skratkou DOPA. Reakcia je znázornená na obrázku č. 4. Práve DOPA je často vyskytujúci sa katecholamín v živých organizmoch kde spĺňa úlohu prekursora pre ďalšie katecholamíny (napríklad dopamín, epinefrín a noradrenalín u ľudí známe ako nízkomolekulárne neurotransmitery). Oxidovaná forma DOPA (chinón) poskytuje odolnosť voči vlhkosti čo je dôležité pre adhéziu vo vodnom prostredí. DOPA vytvára komplexy s kovovými iónmi a oxidmi ako aj s polokovmi, čo zaručuje jeho schopnosť priľnúť k organickým, ale i anorganickým povrchom v podobe rozličných druhov hornín. (Silverman and Roberto, 2007)

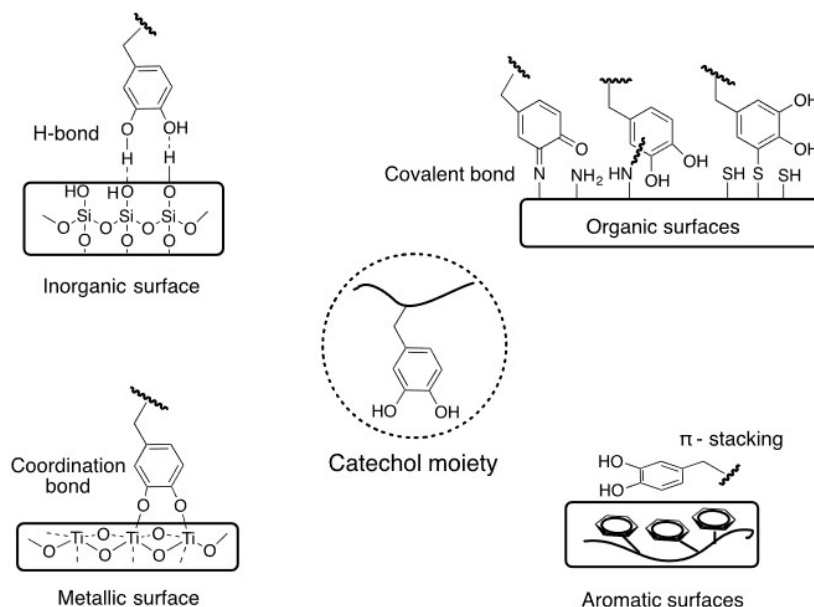
Aj keď jednotlivé látky sú od seba odvodené práve DOPA má v porovnaní s tyrozínom a fenylalanínom najväčšiu schopnosť reakcie so substrátmi. Hlavný štruktúrny rozdiel je v počte obsahujúcich OH skupín. Ako je možné vidieť na obrázku č.3. najviac ich je obsiahnutých v DOPA čo je jednou z možností prečo je schopný vytvárať silnejšie väzby za účelom spojenia sa. DOPA je najznámejším príkladom dopamínového derivátu. Je to voľná aminokyselina dôležitá pre biologické procesy. Dekarboxyluje sa za vzniku dopamínu *in vivo* a je medziproduktom pri tvorbe melanínu. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018)



Obr. č. 4: Postranlačná modifikácia tyrozínu na DOPA za enzymatických podmienok. (Saranya *et al.*, 2020)

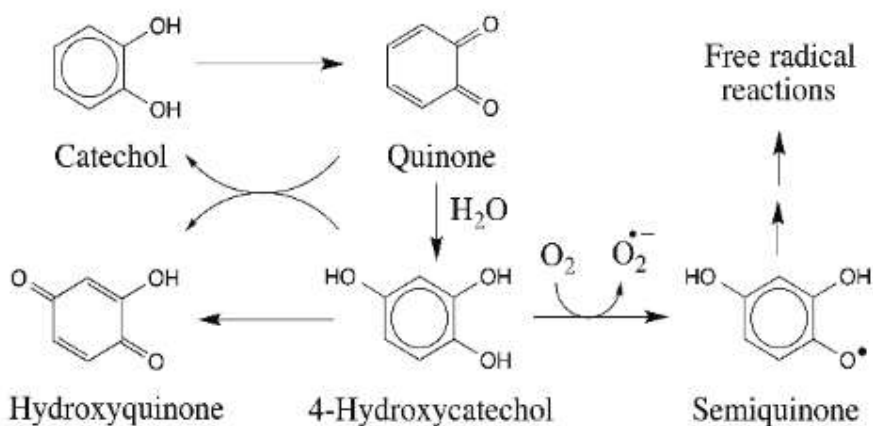
Katcholamíny vďaka svojim schopnostiam interagovať s organickými aj anorganickými povrchmi predstavujú dôležitú bázu pre povrchové modifikácie. V prípade interakcií s povrchom sa vždy jedná o kovalentné alebo silné nekovalentné väzby. Interagujú vytváraním vodíkových mostíkov, stohovacími interakciami medzi benzénovým jadrom, pri kovoch sa predpokladá bidenátna väzba. Zohrávajú významnú úlohu všestranných platforiem pre ďalšiu funkcionalizáciu makromolekulárnych štruktúr. (Faure *et al.*, 2013)

Mechanizmus adhézie pri interakciách katecholových skupín prevláda vždy v závislosti od substrátu. Ako už bolo spomenuté, katecholová časť je charakterizovaná benzénovým jadrom a dvoma hydroxylovými skupinami. Pri kontakte s hydrofilnými povrchmi substrátov katecholová časť ponúka svoj vodík k vytvoreniu spojov v podobe vodíkových interakcií. To platí aj pre organické povrchy s polárnymi skupinami akou je napríklad karboxylová skupina. V kontakte s hydrofóbnymi povrchmi kam patria polymérne substráty (bez polárnych väzieb), preberajú väzobnú akciu van der Waalove sily a interakcie s fenolovým jadrom. Predpokladá sa, že hydrofóbnne substráty obsahujúce aromatické skupiny (napríklad polystyrén), interagujú cez stohovacie väzby vznikajúce medzi benzénovými jadrami. Interakcie medzi katecholmi a povrchmi bohatými na aromatické látky budú prevládať nad inými slabými nekovalentnými väzbami. Substráty s aromatickým jadrom tak majú predpoklad k vytvoreniu pevnejšej väzby. Pri povrchoch kovov a ich oxidov prebieha proces naväzovania prednostne prostredníctvom kovalentných väzieb. Ďalšou z možností v prípade organických substrátov obsahujúcich amino alebo tiolové skupiny je upnutie katecholov na substráty skrz Michaelovu adíciu alebo vytvorením Schiffovej bázy cez reakciu ich funkčných skupín. (Faure *et al.*, 2013)



Obr. č. 5: Interakcie katecholov s rôznymi povrchmi (Saranya *et al.*, 2020)

Katecholy sú náchylné na oxidáciu. Pri jedoelektrónovej oxidácii vznikajú semichinónové radikály. Pri dvojelektrónovej oxidácii vzniká o-chinón. Všeobecný redoxný potenciál klesá so zvyšujúcim sa pH kvôli účinku deportácie hydroxylových skupín katecholov. Nukleofily schopné zachytiť o-chinón katecholu sú tioly a amíny. Amíny reagujú s chinónmi cez spomínanú Michaelovu adíciu a Schiffovu bázu. Tieto reakcie vedú k zvýšeniu súdržnosti proteínov a k takzvanému samozosieťovaniu, predurčeného vznikom dopa-chinónu. Je to jav pozorovaný prednostne pri tuhnutí proteínov u mušlí za účelom adhézie v prírode. Oxidačné polymerizácie vedú k tvorbe filmov nekontrolovateľnou reakciou sieťovania. Filmy zložené zo zmesi zosieťovaných produktov s katecholovými alebo chinónovými skupinami sú vhodné pre ďalšie derivatizácie. (Faure *et al.*, 2013)



Obr. č. 6: O-Chinón vytvorený z katecholu dvojelektrónovou oxidáciou sa môže podrobiť adícii s vodou za vzniku hydroxykatecholu, ktorý ľahko podlieha oxidácii na hydroxy-p-chinón, ako aj semichinón reakciou s molekulárnym kyslíkom. (Simon *et al.*, 2009)

Najviac skúmaný polykatecholamín je PDA. Je výsledkom oxidačných polymerizačných reakcií prostredníctvom kombinácie vnútro aj medzi-molekulárných reakcií medzi produktov odvodených od dopamínového chinónu. Zároveň sa predpokladá sa, že štruktúra PDA má oligoméru povahu. Povlaky pozostávajúce z agregátov takýchto oligomérov sú udržiavané kovalentnými a nekovalentnými interakciami. Spletité formy oligomérov zahŕňajú indolové skupiny, karboxylové, aminoskupiny, imínové jednotky, indolicko-katecholické  $\pi$ -systémy, chinónové zvyšky, fenolové skupiny ako aj molekuly dopamínu (DA) s otvoreným reťazcom. (Lyu *et al.*, 2017)

PDA je biopolymér vyrobený autooxidáciou DA. Vyznačuje sa mimoriadnymi adhéznymi vlastnosťami. Hlavnou výhodou PDA povlakov je bohatá škála možnej sekundárnej funkcionalizácie pre rôzne aplikácie. Rozšírili sa do oblastí biomedicíny, biosnímania, energetiky, úpravy vody a podobne. Z radu katecholamínov sa k modifikácii využívajú aj syntetické eumelaníny (patriace k odvetviu pigmentácie), ktoré sú stredobodom rastúceho záujmu ako činidlá absorbujúce UV žiarenie, antioxidanty, lapače voľných radikálov a hybridné elektronicko-iónové polovodiče. Kvôli svojim zvláštnym

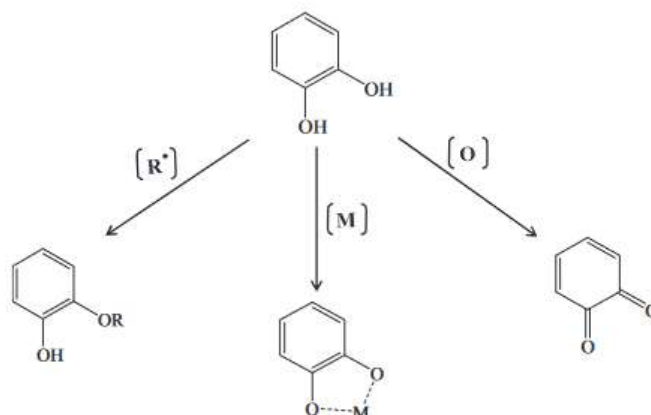
fyzikálno-chemickým vlastnostiam majú eumelaníny a PDA značný prísľub v nanomedicíne a bioelektronike, pretože sú biokompatibilné, biodegradovateľné a vykazujú vhodné mechanické vlastnosti na integráciu s biologickými tkanivami. (d'Ischia *et al.*, 2014)

PDA sa považuje buď priamo za polymérny materiál, alebo za samovoľne zostavený oligomérený materiál z 5,6dihydroxyindolu (DHI), ako konečného produktu oxidácie dopamínu. (El Yakhlifi and Ball, 2020) Katecholové skupiny PDA môžu pôsobiť ako silné redukčné činidlá pre oxidy a soli kovov na výrobu kovových nanočastíc. Stabilizačný účinok katecholov voči iónovým formám má svoje vyžitie pri mineralizácii kryštálov pre ďalšie transformovanie kostných minerálov. (Faure *et al.*, 2013)

## 2.2 Spôsoby ukotvenia k povrchu

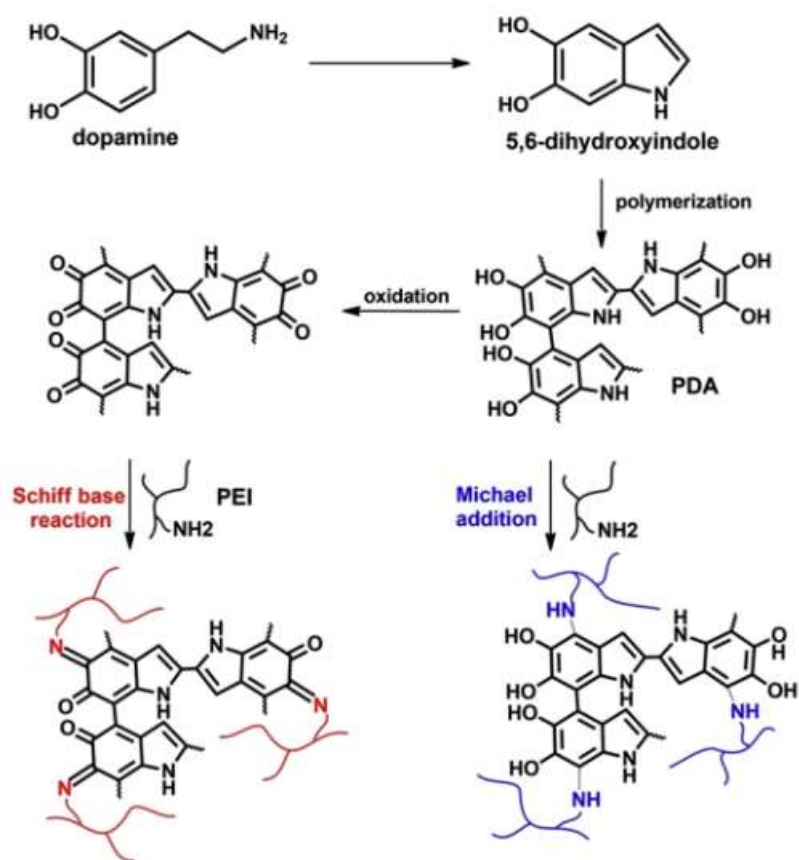
Prvotnou inšpiráciou pre hlbšie preskúvanie katecholamínov boli lastúrniky. Proteíny vylučované morskými živočíchmi sa silne viažu k všetkým povrchom vo vodnom slanom prostredí. Ako už bol vyššie opísaná aminokyselina DOPA ktorá vzniká postranslačnou modifikáciou tyrozínu predstavuje dôležitú stavebnú jednotku schopnú priľnúť k anorganickým aj organickým povrchom. (Lee, Scherer and Messersmith, 2006) Vysoký obsah katecholu zahŕňa 3,4 dihydroxybenzén v zložke DOPA. Ďalšou súčasťou plaku morských mäkkýšov je obsah primárnych a sekundárnych amínov v dôsledku lyzínových a histidínových zvyškov. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018) Okrem toho že sú účastné na reakciách stoja aj za samotným tuhnutím plaku mušle po prichytení sa na substrát. (Lee *et al.*, 2007)

Predošlé zistenia potvrdili že kombinácia katecholu a amínu je špeciálna a týka sa medzifázovej adhézie vďaka koexistencii katecholových a amínových funkčných skupín. Pre katecholamíny s nízkou molekulovou hmotnosťou ako je dopamín, to v súvislosti s adhéziou znamenalo nárast záujmu. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018) Pozornosť týchto procesov prilákal fakt efektivity priľnavosti vo vodnom a vlhkom prostredí. U lastúrnikov sa vyvinuli adhézne proteíny ktoré problém slabej priľnavosti obchádzajú vytláčaním hydratačných vrstiev a následným premostením na povrch prostredníctvom silnej väzby skrz DOPA. Za touto vlastnosťou stojí vysoký obsah DOPA v blízkosti kationových aminokyselín. Synergický efekt medzi DOPA a primárnymi amínmi je spôsobený rozptylom hydratačnej vrstvy povrchu prostredníctvom nabitých amínov, ktoré umožňujú katecholovým zvyškom viazať sa na povrch. Sekvenčným efektom ako je rozmiestnenie nabitých skupín a katecholových zvyškov sa venoval Fisher a kolektív. Opísal ako katecholové a amínové zvyšky pôsobia kooperatívnym spôsobom premiestňovaním hydratačných bariér pred väzbou na minerálnych povrchoch. Spolu preukázali, že vzdialenosť katecholu a amínu má významný vplyv na adhéziu, naopak posun ich polohy nepreukázal významný dopad. (Fischer *et al.*, 2020)



Obr. č. 7: Znárodnenie radikálovej reakcie ( $R^*$ ), interakcia s kovom (M), oxidácia (O) (Faure *et al.*, 2013)

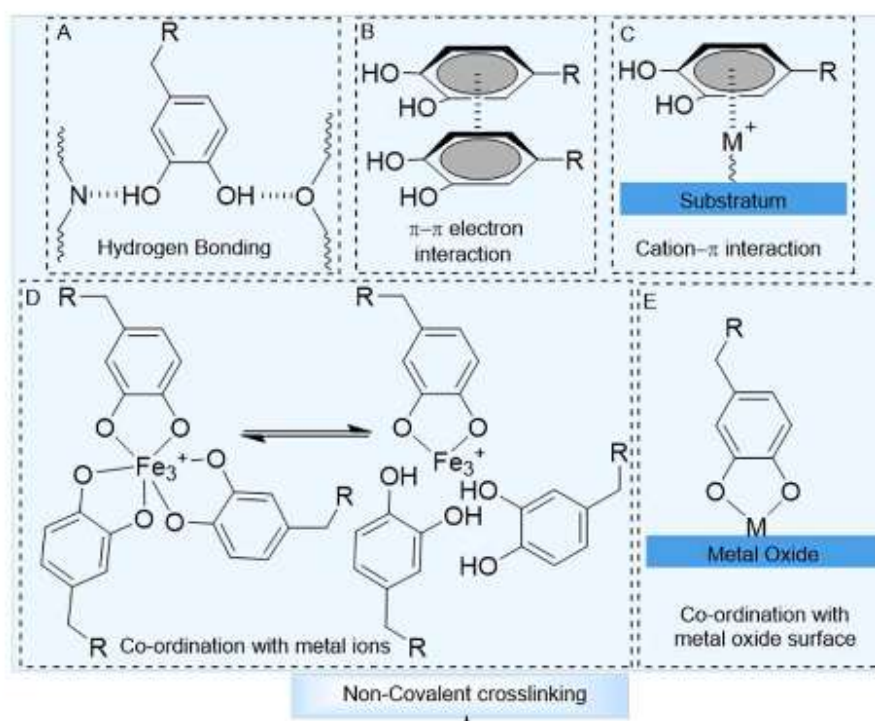
K všestrannosti PDA prispievajú viaceré funkčné skupiny vrátane katecholovej skupiny, aminoskupiny, skupina kyseliny karboxylovej, indolové jednotky a chinónové funkcie. Ani v súčasnej dobe podrobný proces stále nie je presne opísaný. Základné reakcie s katecholom sú znázornené na obrázku č. 7, kde je možné vidieť zmeny prebiehajúce pri oxidácii, kovovej chelatacii a radikálovej reakcii. PDA sa na substrátoch povlieka väčšinou prostredníctvom kovalentných väzieb (Michaelovho typu adícia, reakcie Schiffových báz) alebo nekovalentných väzieb (vodíková väzba,  $\pi$ - $\pi$  stohovacie interakcie, chelátovanie kovov). (Tang *et al.*, 2021) Prevaha jednotlivých väzieb súvisí s charakterom substrátu. Vo všetkých prípadoch však možno medzi katecholovými skupinami a anorganickými substrátmi nájsť kovalentné alebo silné nekovalentné interakcie. Vytvárajú sa vodíkové väzby alebo  $\pi$ - $\pi$  stohovacie interakcie. Pri oxidoch kovov sa predpokladá, že katecholové skupiny vytvárajú bidentátové väzby s povrchom kovu. (Faure *et al.*, 2013) Štruktúra PDA predstavuje spleť oligomérov ktoré vznikli v dôsledku oxidácie dopamínu. Ukážka kovalentných väzieb je na obrázku č. 8, kde je vidieť PDA a polyetylénimín (PEI) pri reakcii Michaelovou adíciou a Schiffovej bázy.



Obr. č. 8: Schematické znázornenie dvoch možných procesov tvorby povlaku nanoseného PDA a PEI. (Qiu, Yang and Xu, 2018)



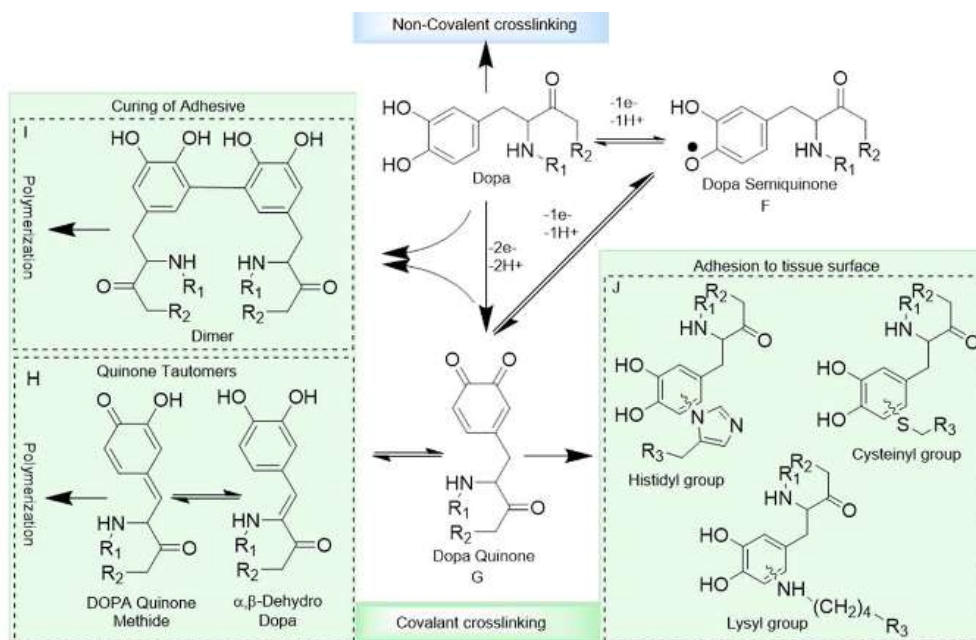
Nekovalentné väzby sú možné vďaka dihydroxidovej funkčnej časti, vďaka čomu vznikajú vodíkové väzby. To podporuje adsorpciu k tkanivám a hydroxyapatitovým povrchom. Benzénový kruh reaguje s inými aromatickými časťami cez  $\pi$ - $\pi$  elektrónové interakcie. Čo zlepšuje kohézne vlastnosti polymérov obsahujúcich katechol a umožňuje im priľnúť k povrchom bohatým na aromatické zlúčeniny. Aromatický kruh tiež vytvára kation- $\pi$  interakciu s kladne nabitými iónmi, čo je jedna z najsilnejších nekovalentných interakcií vo vode. Táto interakcia zvyšuje podporuje absorpciu katecholu na nabité povrchy a prispieva k súdržným vlastnostiam materiálov bohatých na aromatické aj kationové funkčné skupiny. (Kord Forooshani and Lee, 2017) Podrobný náčrt jednotlivých nekovalentných inerakcií je na obrázku č. 9. Katechol chelatuje ióny kovov a vytvára silné, reverzibilné komplexy s rôznymi iónmi kovov, tiež vytvára silné, reverzibilné medzifázové väzby s povrchmi oxidov kovov. Väzbová sila katecholu na kovové substráty je veľmi závislá od jeho oxidačného stavu, táto sila väzby sa dramaticky znižuje, keď je katechol oxidovaný. (Kord Forooshani and Lee, 2017)



Obr. č. 9: Nekovalentné väzobné možnosti. Katechol vytvára vodíkové väzby prostredníctvom svojich -OH skupín (A), interakcie elektrónov  $\pi$ - $\pi$  s iným benzénovým kruhom (B) a interakcie kation- $\pi$  s kladne nabitými iónmi (C). Katechol chelátuje kovové ióny za vzniku samoliečiaceho sa zosieťovania (D) a vytvára koordinačné väzby s povrchmi oxidov kovov (E) (Kord Forooshani and Lee, 2017)

Nasledujúci obrázok č. 10 schematicky znázorňuje procesy vedúce ku kovalentným prepojeniam. Samotný mechanizmus polymerizácie pravdepodobne zahŕňa oxidáciu katecholu na semichinón a chinón, po ktorej nasleduje polymerizácia spôsobom

pripomínajúcim melanín ktorá vzniká polymerizáciou štruktúrne podobných zlúčenín. (Lee *et al.*, 2007)



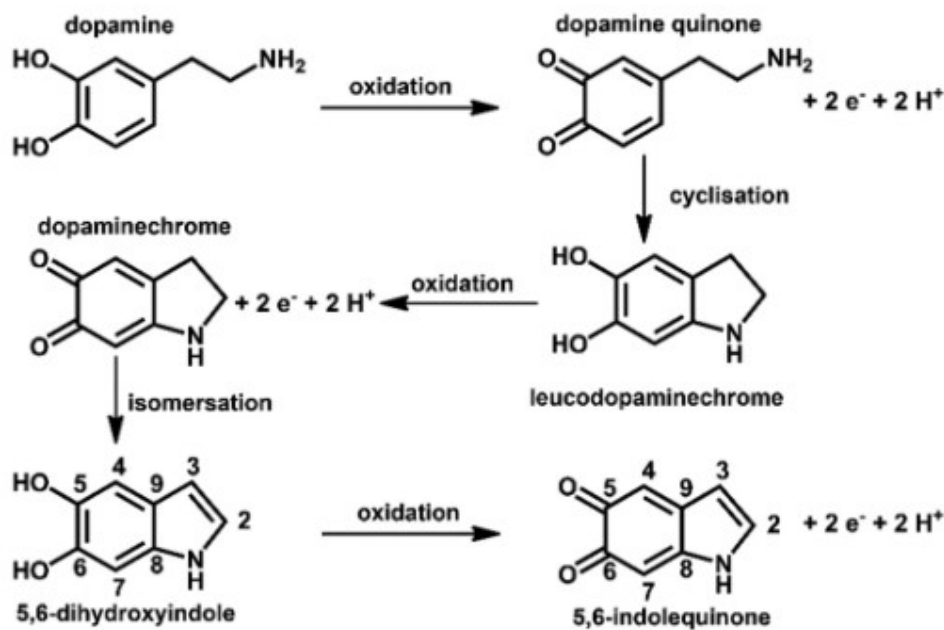
Obr. č. 10: Kovalentné interakcie. DOPA oxiduje na svoje semichinónové a chinónové formy, ktoré sú vysoko reaktívne (F, G). Chinón sa tautomerizuje cez DOPACHINÓNMETID a α,β-dehydroDOPA, čo vedie k následnej polymerizácii katecholovej skupiny (H). Chinón tiež tvorí diméry s inou katecholovou skupinou, to vedie k tvorbe diméru (I). Chinón reaguje s nukleofilmi (t.j. -NH<sub>2</sub>, -SH) nachádzajúcimi sa na povrchu tkaniva, čo vedie k medzifázovému kovalentnému zosieťovaniu (J). (Kord Forooshani and Lee, 2017)

Napríklad jodistanom sprostredkované zosieťovanie zahŕňa polymerizáciu α,β-dehydro formy katecholu, s maximálnou rýchlosťou zosieťovania pri molárnom pomere jodistanu ku katecholu medzi 1 a 0,5. Rýchlosť sieťovania sa zvyšuje so zvyšujúcim sa pH v dôsledku zvýšenej konverzie katecholu na chinón pri zásaditejšom pH. Oxidačný medziprodukt katecholu, ako je chinónmetid, je stabilnejší pri mierne kyslom stave, pričom rýchlosť sieťovania sa pri kyslom pH spomaľuje. Podobne aj protonizácia nukleofilných funkčných skupín pri kyslom pH obmedzuje ich schopnosť kovalentného sieťovania, čo vedie k zníženiu medzifázovej väzby medzi lepidlom obsahujúcim katechol a povrchom mäkkého tkaniva pri kyslom pH. Znížená schopnosť zosieťovania v kyslom pH môže obmedziť aplikáciu katecholu pri kontakte s mierne kyslými tkanivami. (Kord Forooshani and Lee, 2017)

Oxidácia katecholamínu s voľnou primárnou amínovou skupinou vedie k vnútramolekulovej cyklizácii a polymerizácii pripomínajúcej tvorbu melanínu. Aminová skupina nachádzajúca sa v polydopamínovom filme prispieva ku kohéznej sile vytváranej medzi polydopamínovými filmami. Polydopamínový povlak zostáva

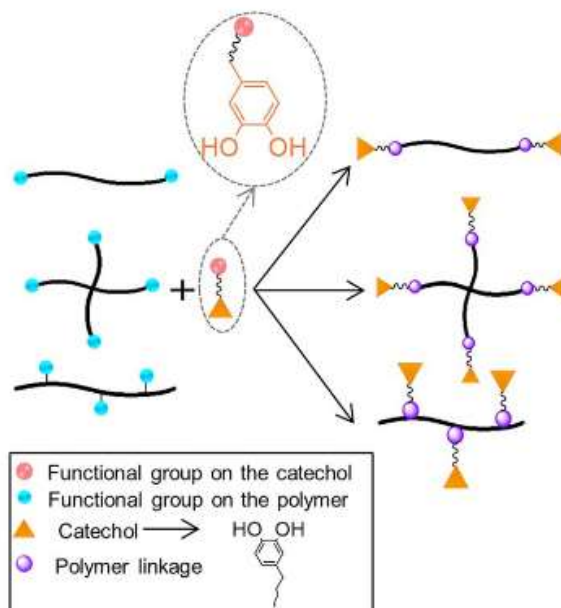
reaktívny a môže byť ďalej modifikovaný funkčnými skupinami alebo kovovými iónmi. Počiatočnou hnacou silou tvorby PD je oxidácia dopamínu rozpusteným kyslíkom pri roztoku s alkalickým pH. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018) Keď katechol oxiduje stáva sa vysoko reaktívnym a môže sa podieľať na intermolekulárnom kovalentnom zosieťovaní. Adhézna vlastnosť katecholu je veľmi závislá od jeho oxidačného stavu. Katechol existuje v redukovanej forme pri kyslom pH a vtedy vykazuje katechol zvýšenú adhéznou pevnosť k anorganickým substrátom. Keď sa pH blíži k prvej disociačnej konštante katecholovej OH skupiny ( $pK_a = 9,3$ ) a prekročí ju, bočný reťazec katecholu sa autoxiduje na svoju chinónovú formu so zníženou adhéznou pevnosťou. (Springsteen and Wang, 2002) Sila potrebná na oddelenie jednej molekuly DOPA od povrchu Ti sa znižuje takmer o 80 % s oxidáciou bočného reťazca katecholu. Obdobne aj prídanie chemických oxidantov ireverzibilne oxiduje katechol, čo vedie k zníženiu adhézných vlastností. (Kord Forooshani and Lee, 2017)

Eliminácia kyslíka z roztoku spomaľuje alebo eliminuje tvorbu PDA. Produkt oxidácie je dopamín-chinón. Ten podlieha nukleofilnej intramolekulárnej cyklizačnej reakcii. Tá vedie k vzniku DHI. Väčšina vedeckých teórií definuje tieto dve zložky ako základné stavebné jednotky vzniku PDA. Niektoré štúdie uvádzajú, že PDA pozostáva z nekovalentných zostáv dopamínu, zatiaľ čo iná časť vedeckých hypotéz definuje PDA ako heteropolymér pozostávajúci z katecholamínov, chinónov, indolov ako opakujúcich sa jednotiek. Predpokladá sa že PDA je oligomér podobný eumelanínu, a jeho stavebné bloky vznikajú ďalšou oxidáciou DHI. Žiadna z alternatív nie je výsledne preukázaná a existuje pravdepodobnosť že všetky varianty vzájomne alternujú. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018)



Obr. č. 11: Možné medziprodukty pri oxidačnej polymerizácii PDA (Qiu, Yang and Xu, 2018)

Katecholové funkcie sa môžu začleniť do makromolekúl ako hlavné, bočné a koncové skupiny reťazca použitím rôznych syntetických ciest. A to formou oxidačnej či enzymatickej polymerizácie funkčných katecholov, polymerizáciu monomérov nesúcich chránené alebo nechránené katecholové skupiny (radikálová polymerizácia, peptidová syntéza). Riadenou (živou) polymerizáciou syntetických monomérov za účasti iniciátorov na katecholovej báze prípadne činidiel prenosu reťazca. (Faure *et al.*, 2013)

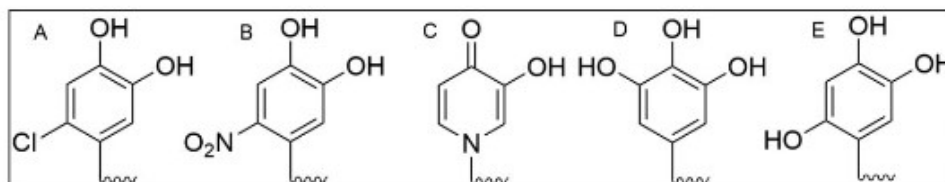


Obr. č. 12: Stratégie prípravy katecholom modifikovaných polymérov rôznej architektúry s funkčnými skupinami, ako sú  $\text{NH}_2$ , OH a  $\text{COOH}$ , prostredníctvom tvorby amidových, esterových a uretanových väzieb. (Kord Forooshani and Lee, 2017)

Molekuly nesúce katecholy sa ľahko premieňajú na vysoko reaktívne chinóny a to pôsobením silného oxidačného činidla, či enzýmom, prevzdušeným vodným roztokom pri neutrálnom až alkalickom pH. Výsledkom oxidačných polymerizácií je tvorba zosieťovaných filmov nesúcich prevažne katecholové a chinónové skupiny, tie sa využívajú na ďalšie derivatizácie. Je to proces kedy plnia súčasť hlavného reťazca. Funkcia autopolymerizácie katecholamínov prebieha postupne. Z mechanistického hľadiska sa PDA sieť tvorí pomocou Schiffovej bázy a/alebo adíciou Michaelovho typu za účasti chinónových skupín oxidovaného dopamínu s jeho primárnou aminoskupinou. Oxidácia dopamínu vedie k dopaminchrómu po viacstupňovej reakčnej ceste. Molekula sa potom môže samopolymerizovať a vytvárať polyméry, ktoré sú zvyčajne komplexnými sieťami s voľnými katecholovými skupinami dostupnými pre ďalšie chemické reakcie. Podobným procesom prebieha formácia melanínu s tvorbou komplexných systémov. (Faure *et al.*, 2013)

DOPA sa nachádza v adhezívnych proteínoch rôznych živočíchov kde sa stretávame s modifikovanými bočnými reťazcami katecholu. V týchto adhezívnych proteínoch je

para protón (-H) v bočnom reťazci katecholu substituovaný funkčnou skupinou (často chlór), ktorá sa považuje za prirodzenú adaptáciu na zvýšenie medzifázovej väzbovej sily. Bočný reťazec katecholu modifikovaný nitroskupinami zas významne zvýšil reaktivitu a medzifázovú väzbovú silu katecholov priťahujúcimi elektrónmi. Nitrokatechol naviazaný na anorganický povrch vykazoval vyššiu odolnosť voči zvýšenej teplote a oxidácii v porovnaní s nesubstituovaným katecholom. Tieto modifikácie znížili disociačné konštanty (pKa) katecholových hydroxylových skupín, čo podporovalo tvorbu komplexov katechol-kovový ión pri zníženom pH a s vyššou stechiometriou. Nitrokatechol vykazoval zvýšenú rýchlosť kovalentného zosieťovania, viazal sa na biologické substráty v širšom rozsahu pH a zvýšil rýchlosť degradácie lepidla, keďže v porovnaní s nemodifikovaným katecholom, (nitro a chlór) funkcionalizované katecholy vykazujú zaujímavé vlastnosti, ako je degradácia vyvolaná svetlom či antimikrobiálne vlastnosti. Podobne chinón modifikovaný pyridínom tiež vytvoril silné komplexy kovových iónov, ako aj zvýšenú medzifázovú väzbovú silu na anorganické substráty. Naviazaním OH modifikovaných katecholových skupín sa vytvorili trioxyfenylové časti. Preukázali schopnosť vytvárať silné komplexy s kovovými iónmi a kyselinou boritou. Prírodný polyfenol pozostávajúci z trihydroxyfenolových skupín je kyselina trieslová. Má schopnosť vytvoriť bezfarebný povlak pre následné povrchové úpravy na vytvorenie antibakteriálnych a antioxidačných povrchov. Používa sa pri vytváraní nanočastíc na zachytenie a stabilizáciu protirakovinových liekov. (Kord Forooshani and Lee, 2017)



Obr. č. 13: Chemická štruktúra modifikovaného katecholového bočného reťazca s protónom (-H) v para polohe nahradeným chlór (A), nitro- funkčnou skupinou (B), benzénový kruh bol nahradený pyridínovou skupinou (C), protón substituovaný OH skupinou v meta (D) a para (E) polohách benzénového kruhu. (Kord Forooshani and Lee, 2017)

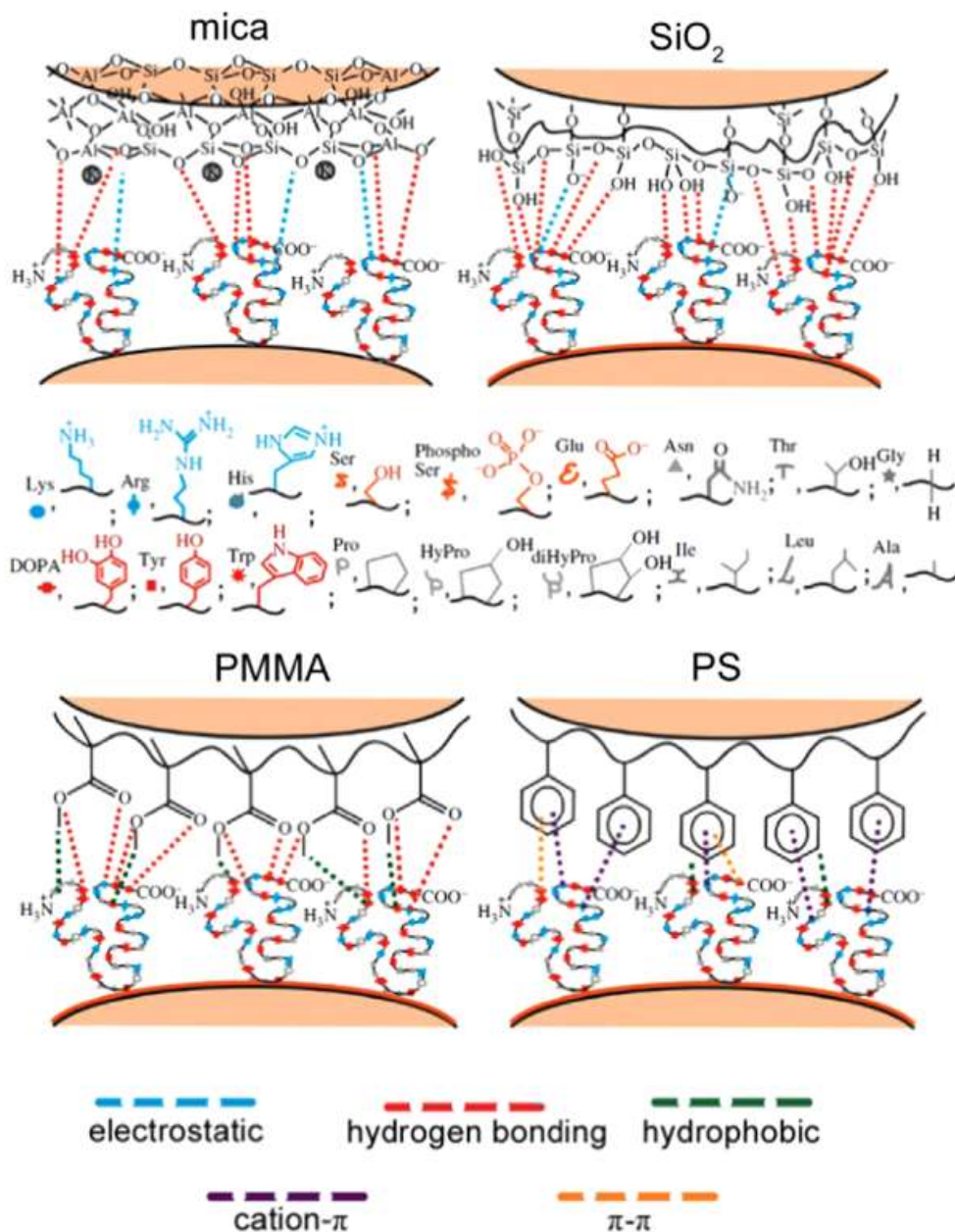
Zmena substituentov aromatického kruhu sa môže cielene vykonať, so zámerom zvýšiť oxidačný potenciál a znížiť hodnoty pKa hydroxylových skupín, čím sa stabilizuje katecholová forma a posunie sa zvýšená koordinačná stechiometria smerom k nižšiemu pH. Okrem začlenenenia substituentov odoberajúcich elektróny, ako sú vyššie spomenuté Cl a NO<sub>2</sub>, boli substituované aj bromokatecholy a pyrogalloly s aplikáciou v polymérnych antioxodantoch. Vo všeobecnosti sa v posledných rokoch rozvíjajú rozsiahle štúdie o pyrogallolových druhoch (nazývaných aj triesloviny), vzniklo tak niekoľko nových materiálov založených na koordinácii kovov a pyrogallolov, vrátane nových polymérnych a hydrogélových materiálov, funkčných povlakov a filmov,

funkčných nanokompozitných materiálov, nanočastíc a kapsúl, a dokonca aj farbív pre solárne články. (Andersen, Chen and Birkedal, 2019)

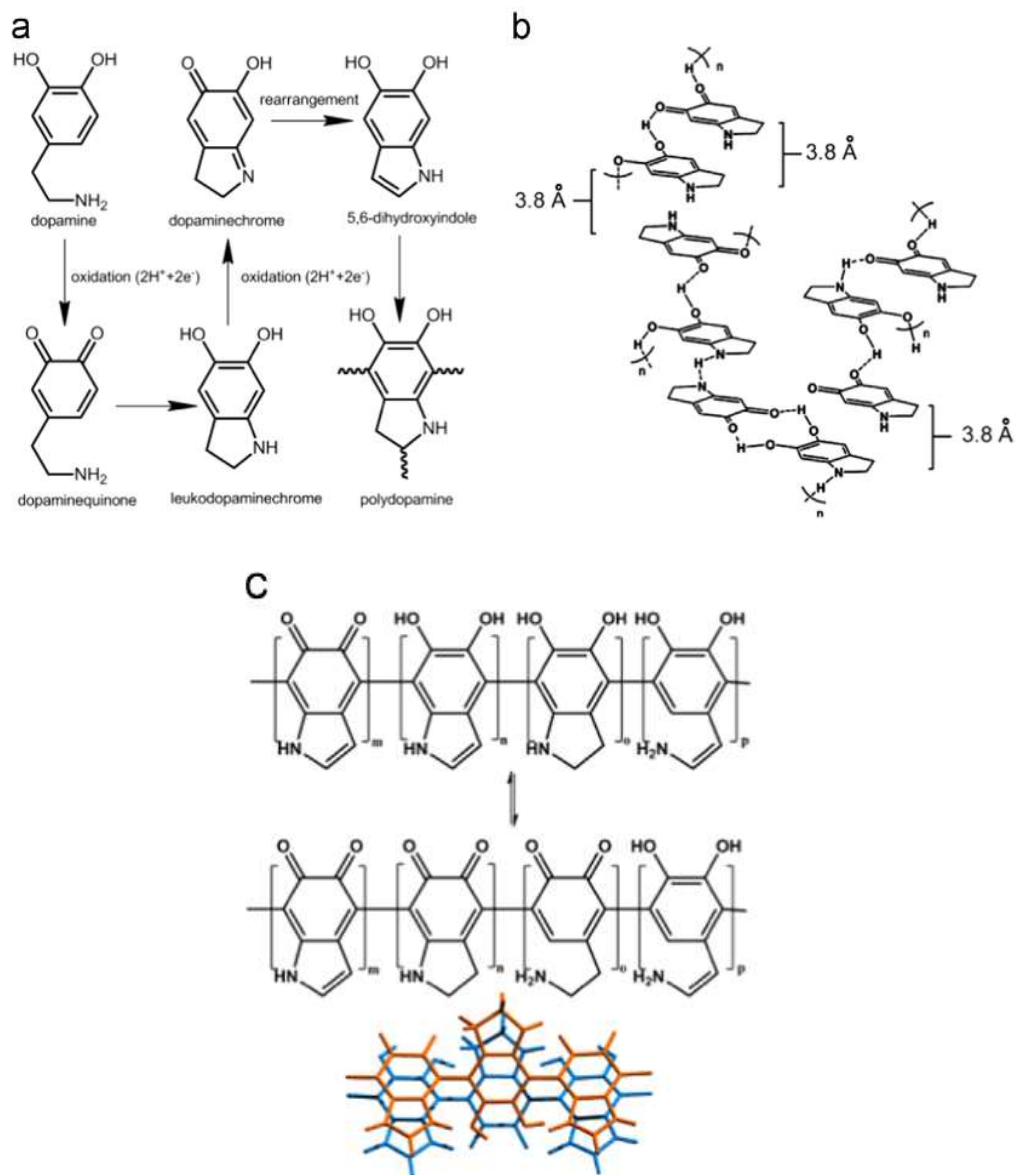
Namiesto substitúcií na katechole možno s veľkým účinkom zmeniť aj samotný aromatický kruh. Takáto analógia katecholu, kde je samotný kruh zmenený na pyridinón, bol po prvýkrát začlenený do hydrogélovej konštrukcie v roku 2013. Porovnávali sa koordinačné schopnosti kovov 2-metoxy-3-hydroxy-4-pyridinónu (HOPO) s DOPA a 4-nitro katecholom v hydrogélach na báze polyetylénglykolu (PEG). HOPO má výrazne nižšie hodnoty fenolovej pKa, koordinácia kovov bola podľa očakávania zvýhodnená pri nižšom pH. Autori dospeli k záveru, že na rozdiel od nemodifikovaného katecholu je katechol HOPO odolný voči oxidácii kyslíkom (starnutie), pH a redoxným reakciám s  $\text{Fe(III)} \rightarrow \text{Fe(II)}$ . Autori neskôr preukázali schopnosť dosiahnuť tuhosť a regeneráciu závislú od rýchlosti v interpenetračných sieťových hydrogélach z voľne kovalentne zosieťovaného polyhydroxyetyl-akrylamidu a kovom koordinovaného HOPO-PEG. Práca ukazuje, ako oxidačná kontrola katecholov významne moduluje ich výkon v materiáloch. (Menyo, Hawker and Waite, 2015) Využitím oxidačne odolnej povahy HOPO bol následne vyvinutý dvojnásobne zosieťovaný hydrogélový systém s vlastnosťami závislými od pH, so samoregeneračnými vlastnosťami a laditeľnou tuhosťou podľa množstva oxidačne indukovaného a koordinačného zosieťovania. Koordinácia HOPO v prostredí bohatom na amíny môže zabezpečiť silné, ale reverzibilné zosieťovanie aj pri nízkom pH vďaka zníženým hodnotám fenolovej pKa a pri vysokom pH vďaka oxidačnej odolnosti HOPO. (Andersen, Chen and Birkedal, 2019)

Bolo zaznamenané, že zdvojnásobenie dĺžky peptidového reťazca zdvojnásobuje veľkosť adhézie mostíkov na dva sľudové povrchy. Kratšie peptidy majú menej možností premostenia, pretože sa môžu viazať len na jeden povrch. Mfps vykazujú zvýšenú adhéziu energiu pri premostovaní dvoch asymetrických povrchov, pretože adhézne proteíny môžu rozdeliť svoje domény chemicky účinných zvyškov medzi dva nepodobné povrchy pre silnú medzifázovú väzbu na tieto povrchy. (Kord Forooshani and Lee, 2017)

Niektoré návrhy väzieb k substrátom podľa rôznych autorov sú uvedené na obrázkoch nižšie. Schéma na obrázku č. 14 vykresľuje návrhy foriem rôznych druhov prepojení v závislosti od typu substrátu. Následne je uvedený náčrt možných reakčných mechanizmov a štruktúr polydopamínu, ako ho navrhli rôzne skupiny odborníkov, ilustrácia sa nachádza na obrázku č. 15.



Obr. č. 14: Mechanizmus pravdepodobných interakcií medzi Mfps a štyrmi rôznymi povrchmi konkrétne slúda (mica), SiO<sub>2</sub>, PMMA a PS. (Yang *et al.*, 2015)



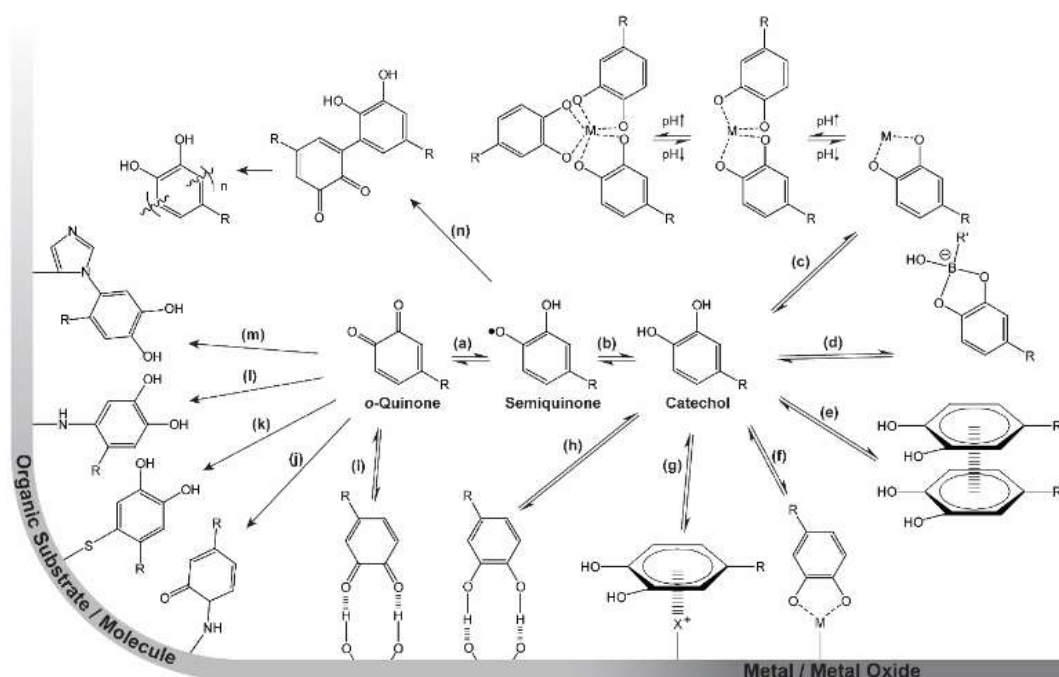
Obr. č. 15: Možné reakčné mechanizmy a štruktúry polydopamínu navrhnuté (a) Messersmithovou, (b) Freemanovou a (c) Liebscherovou skupinou. (Yang *et al.*, 2015)

Oblasť výskumu rýchlo sa rozvíjajúcich sa aplikácií priniesla využitie rozmanitej chémie polyfenolov, ako sú katecholy (DA, DOPA atď.) alebo pyrogallyoly (kyselina trieslovínová (TA) atď.). Andersen píše o samohojivých schopnostiach polyDOPA. Vďaka možnosti polyfenolov chelatacie kovov. Vlákno mušle spája mäkký sval s tvrdým povrchom. Bysové vlákna obsahujú povlak, ktorý sa po poškodení dokáže zaceliť, aj keď nie sú prítomné žiadne bunky. Okrem aminokyselín lyzínu a postranslačne modifikovanej DOPA sa v proteínoch mušle nachádzajú aj ióny železa. Presné synergie medzi rôznymi chemickými zložkami v rámci proteínov ako aj medzi nimi či kinetika dodávania ostávajú stále neupresnené. Predpokladá sa, že samoregeneračné vlastnosti



byssusovej kutikuly umožňuje vysoké množstvo reverzibilných interakcií DOPA najmä koordinačných väzieb medzi DOPA a Fe(III). (Andersen, Chen and Birkedal, 2019)

Chemické reakcie sú silne závislé od pH. Katechol je slabá kyselina, preto schopnosť aromatického kruhu a hydroxylových skupín zúčastňovať sa na rôznych fyzikálnych interakciách je ovplyvnená pH. Pri nízkom pH sa uprednostňuje forma katecholu, zatiaľ čo pri vyššom pH prevláda oxidácia na o-chinón (uľahčujúca kovalentnú väzbu) čo vedie k zosieťovaniu. Schopnosť viazať kovy je tiež veľmi závislá od pH. Pri nízkom pH je možná len nezosieťovaná (mono-) koordinácia, zatiaľ čo pri zvýšenom pH vedie koordinácia katecholu vyššieho rádu (bis- a tris-) k zosieťovaniu proteínov. (Andersen, Chen and Birkedal, 2019) Celkové zhrnutie všetkých dosiaľ opísaných reakcií boli načrtnuté v publikácii kolektívu Andersena. Následný obrázok č. 16 ponúka tento prehľad, na ktorom je možné vidieť zaradenie reakcie v závislosti od substrátu.



Obr. č. 16: Rôznorodosť chémie katecholových interakcií. (a) Reverzibilná redukcia (+1e<sup>-</sup>, +1H<sup>+</sup>) / oxidácia (-1e<sup>-</sup>, -1H<sup>+</sup>) z/na o-chinón na/z semichinón. (b) Reverzibilná redukcia (+1e<sup>-</sup>, +1H<sup>+</sup>) / oxidácia (-1e<sup>-</sup>, -1H<sup>+</sup>) z/na semichinón do/z katechol. (c) Reverzibilná, od pH závislá koordinácia voľných kovových (M) iónov. (d) Reverzibilná tvorba katecholboronátových druhov. (e)  $\pi$ - $\pi$  stohovanie s inými aromatickými skupinami. (f) Reverzibilná adhézia k anorganickým povrchom koordinačnými väzbami. (g) Interakcie  $\pi$ -katiónu s anorganickými kationovými druhmi (t. j. kovmi) alebo organickými kationovými druhmi (t. j. kladne nabitými aminokyselinami (X<sup>+</sup>)). (h) Vodíková väzba na povrchy alebo molekuly ako katechol/donor alebo (i) o-chinón/akceptor. (j) Ireverzibilná väzba na organické molekuly alebo povrchy pomocou reakcií Schiffovej bázy alebo (k) adície Michaelovho typu s tiolmi, (l) amínmi a/alebo (m) inými katecholmi poskytujúcimi (n) diméry a prípadne polyméry. (Andersen, Chen and Birkedal, 2019)

Silné, ale reverzibilné a od pH veľmi závislé koordinačné väzby vytvárajú silnú adhéziu k anorganickým povrchom (kovy a oxidy kovov) a k iónom tvrdých kovov v roztoku. Katecholy môžu podieľať na boronátových formách, ktoré sú reverzibilné, aj keď majú vysoký stupeň kovalencie. Oxidáciou na o-chinónovú formu (schéma v strede na obrázku 16;b,a) sa táto časť stáva vysoko reaktívnou voči širokému spektru organických druhov (viazaných na povrchu alebo v roztoku), čo vedie ku kovalentným väzbám. Pre reakcie zahŕňajúce Schiffove bázové reakcie a adície Michaelovho typu s rôznymi amínmi, tiolmi a inými katecholmi býva výsledkom aj spomínaná polymerizácia dopamínu za vzniku PDA. Aromatický systém umožňuje katecholovým o-chinónovým častiam vzájomnú interakciu pomocou  $\pi$ - $\pi$  interakcie, alebo s kationmi na povrchoch alebo v roztoku pomocou  $\pi$ -kationových interakcií. Napokon, katechol aj ochinón majú schopnosť zúčastňovať sa na vodíkových väzbách. Katecholy tvoria koordinačné komplexy so širokou škálou iónov kovov a pri vysokom pH tvoria tris komplexy. Náboj komplexu závisí od oxidačného stavu kovu a nábojov ligandov.(Andersen, Chen and Birkedal, 2019)

### 2.3 Materiály na báze katecholamínov

Počas všetkých spôsobov syntézy PDA a príbuzných materiálov sa katecholamín rozpustený vo vhodnom tlmivom roztoku musí jednoducho zmiešať s prebytkom oxidačného činidla, aby sa po počiatočnom ostrovčekovom režime rastu vytvorili častice/precipitáty v roztoku a homogénny film na rozhraniach. Silná príľnavosť, ktorú poskytujú tieto PDA a príbuzné katecholové a katecholamínové povlaky (noradrenalín, DOPA), ako aj ich reaktivita s kationmi a nukleofilmi (tioly a amíny), ponúka širokú škálu aplikácií. PDA má blízku kompozičnú a štruktúrnu analógiu s eumelanínmi (hnedo-čiernym farbivom, ktoré poskytuje pokožke fotoprotekciu). (Ball, 2017)

Jedným z príkladov kompozitov PDA a anorganických materiálov, sú materiály na báze uhlíka. Oxid grafénový sa môže redukovať v graféne v prítomnosti noradrenalínu, ktorý sa následne oxiduje a polymerizuje v poly(noradrenalín). Oxid grafénu funkcionalizovaný PDA je účinným nosičom na fixáciu sírouhlíka pri konštrukcii katód pre Li-S batérie. (Zhou *et al.*, 2016) Existuje široká škála kompozitov s iónmi a nanočasticami. Filmy PDA nanosené na rovinných povrchoch obsahujú dostatok katecholových skupín na redukcii kovových kationov na nanočastice. Ďalším príkladom je bavlna potiahnutá PDA vystavená roztoku s obsahom katiínov striebra. Ich redukcia bola sprevádzaná oxidáciou katecholových skupín na chinóny. Po usadení nanočastíc striebra získala bavlna potiahnutá PDA vynikajúcu antibakteriálnu aktivitu. (Xu *et al.*, 2011)

Silné interakcie medzi melanínmi a kationmi  $\text{Na}^+$  sa využili na hodnotenie kompozitov melanín- $\text{Na}^+$  ako anód v palivových článkoch. (Ball, 2017) Kompozity polydopamínu a ich interakcia s organickými materiálmi ja napríklad medzi melanínom a porfyrínom (organická cyklická zlúčenina). Melaníny silne interagujú s kationovými porfyrínu a menia optické vlastnosti farbiva. Záporne nabitý agregáty PDA a polykationy možno

zostaviť do kompozitných tenkých vrstiev metódou depozície po vrstvách. Častice PDA získané pridaním polyalylamínhydrochloridu (PAH) do reakčnej zmesi majú kontrolovanú veľkosť (v závislosti od pomeru dopamín/PAH) a sú kladne nabité. Môžu byť zostavené s polyoxometalátovými aniónmi, aby sa získali elektroaktívne filmy. Alternatívnou stratégiou na začlenenie PDA do filmov deponovaných metódou depozície po vrstvách je použitie týchto filmov ako šablón na tvorbu PDA z roztokov dopamínu v prítomnosti O<sub>2</sub> ako oxidantu. (Ball, 2017)

Mnohí výskumníci ukázali možnosť štepenia dopamínu na polyméry a použitia týchto materiálov na navrhovanie gélov pre biomedicínske aplikácie. (Ball, 2017) PDA predstavuje v aktívnom stave výbornou podporou pre väzbu proteínov. Predpokladalo sa, že syntéza PDA v roztoku bude ovplyvnená prítomnosťou proteínov. Skutočne sa zistilo, že ľudský sérový albumín (HSA) viedol k zníženiu veľkosti agregátov PDA v roztoku po 24 hodinách oxidácie dopamínu v závislosti od pomeru proteín/dopamín. Súčasne sa znížilo ukladanie PDA na rozhraní tuhá látka - kvapalina, keď sa zvýšila koncentrácia rozpusteného HSA. (Chassepot and Ball, 2014)

Podobné výsledky sa získali pri oxidácii dopamínu v prítomnosti proteínov z kuracieho vajecného bielka, čo naznačuje, že veľký, ale zatiaľ neznámy súbor proteínov umožňuje interakciu a interferenciu s PDA počas jeho tvorby. Keď sa dopamín oxiduje v prítomnosti polyvinylalkoholu (PVA), získané polydopamínové častice majú tiež kontrolovanú veľkosť. Pridanie polyvinylpyrolidónu naopak zamedzilo usádzaniu PDA. (Ball, 2017)

Ukázalo sa že pridanie rozvetveného polyetylénimínu (PEI) do roztoku dopamínu umožňuje výrobu robustných voľne stojacich membrán, s ktorými sa dá manipulovať pinzetou a ktoré vykazujú anizotropné zloženie. V blízkosti rozhrania film-vzduch sú bohaté na PDA a v blízkosti rozhrania voda-film sú bohaté na PEI. Tento koncept bol rozšírený o alginát-katechol v roztoku dopamínu, čím sa získali voľne stojace filmy, ktoré menia svoj tvar v závislosti od zmien relatívnej vlhkosti. (Ball, 2017)

Začlenené do rôznych konštrukcií materiálov bývajú aj 4-nitrokatecholy, a to jednak s využitím koordinácie s iónmi Fe(III) na vytvorenie pevných, ale vstrekovateľných a samoregeneračných plastov, jednak s koordináciou s FeO<sub>3</sub> na získanie ľahkých, samoregeneračných magnetických sietí. Okrem toho sa materiály na báze 4-nitrokatechol-boronátov použili ako sieťové spojivá v polymérnych lepidlách a na usmernenie samousporiadania blokových polymérov do micel. Bola vyvinutá samopolymerizácia 4-nitrokatecholov a 4-metoxykatecholov a alternatívne polydopamínové materiály s fotokatalytickou aktivitou, resp. urýchlenu oxidáciou (polymerizáciou). (Andersen, Chen and Birkedal, 2019)

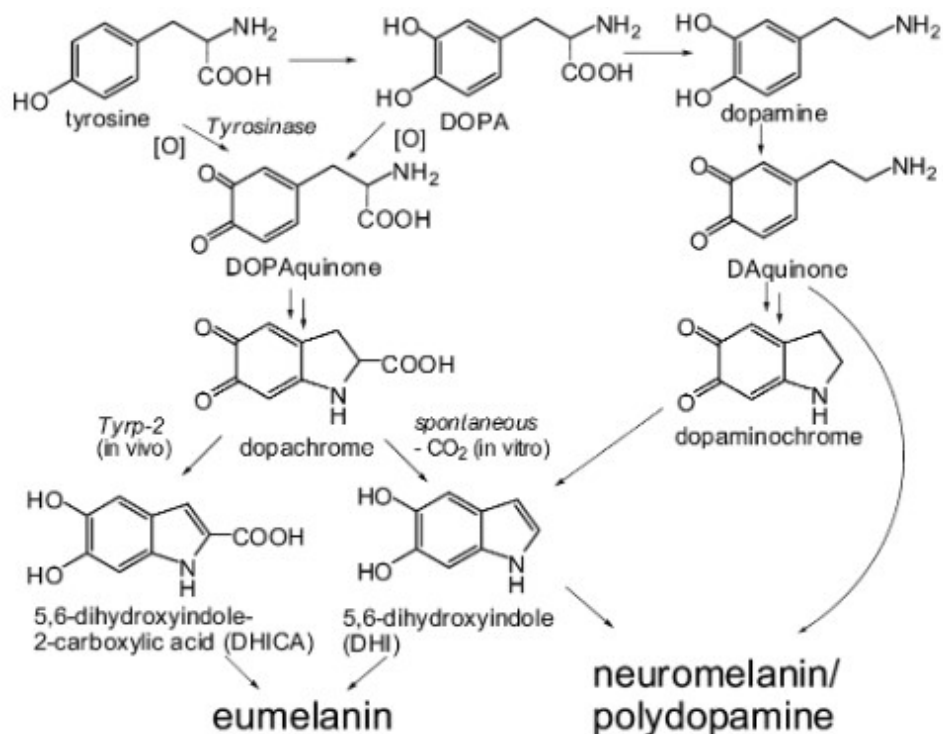
Dôležitým zistením je možnosť výroby stabilných suspenzií na báze PDA biomimetickým spôsobom v prítomnosti proteínov v reakčnom prostredí. Takéto nanočastice by sa mohli spracovať v procesoch dvojrozmernej a trojrozmernej tlače s cieľom získať nové lešenia na navrhovanie nových biomateriálov a materiálov zameraných na procesy premeny energie. (Ball, 2017)

Možno uvažovať o spôsoboch spracovania na zväčšenie veľkosti usporiadaných domén v PDA s cieľom získať kompozitné materiály s vyššou elektrickou vodivosťou. V tejto súvislosti je náročné definovať podmienky syntézy, ktoré umožnia vyrobiť vodivý materiál zo zmesi anilínu (za oxidačných podmienok vzniká polyanilín) a dopamínu (alebo iných katecholamínov). PDA sa totiž najčastejšie získava v zásaditých podmienkach, zatiaľ čo dopovaný polyanilín sa ideálne získava v silne kyslých podmienkach. (Ball, 2017)

## 2.4 Štruktúra a tvorba - Melaníny

PDA sa vytvára autoxidáciou katecholamínového neurotransmitera dopamínu. S tým úzko súvisí vlastnosť metabolitov katecholamínov DOPA a dopamínu vytvárať pri oxidácii rôzne pigmenty, ktoré sa bežne označujú ako melaníny. Patria tu eumelaníny, feomelaníny, neuromelaníny. Sú zaujímavé pre svoje fyzikálno-chemické vlastnosti, ako je širokopásmová UV absorpcia, vlastný voľnoradikálový charakter, efektívna neradiačná disipácia energie. Zastávajú miesto vo výskume pre aplikáciu v organickej elektronike či iných hybridných materiáloch aj na stabilizáciu polymérov. (d'Ischia *et al.*, 2014) PDA je svojím zložením a štruktúrou príbuzný eumelanínom. Eumelaníny sú pigmenty často využívané pre tvorbu kompozitných častíc a filmov pri navrhovaní biomateriálov. Chemické princípy implikované pri tvorbe týchto kompozitov sa opierajú o bohatú chémiu katecholu a katecholamínov, molekulárnych stavebných prvkov melanínov. Pri tvorbe melanínov, ich interakcii s proteínmi a inými materiálmi sa implikuje redoxná chémia závislá od pH, elektrické interakcie a komplexácia s kovovými kationmi. (Ball, 2017)

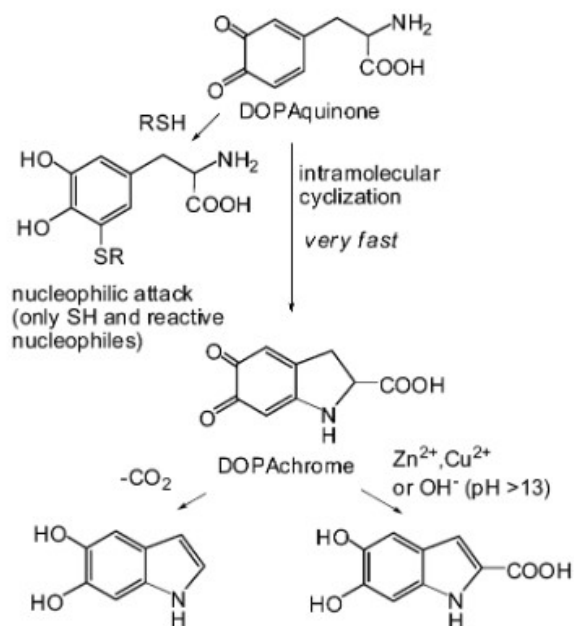
Biosyntéza eumelanínu prebieha v epidermálnych melanocytoch a zahŕňa oxidáciu tyrozínu (za účasti katalyzátora tyrozinázy) alebo DOPA premenou na DOPACHINÓN a potom na DOPACHRÓM. V organizme je reakcia podporovaná ďalším proteínom spojeným s tyrozinázou-2 (na obrázku č. 17 označená ako Tyrp-2) čo indukuje izomerizáciu na DHICA. Pri chemicky riadenej polymerizácii prebieha izomerizácia spontánne s dekarboxyláciou kde prevažujúcim výstupným produktom je predovšetkým DHI. Oba zložky sa líšia začlenenými karboxylovými jednotkami v rozpoznateľnej miere. Oxidačná polymerizácia DHI a DHICA vedie k usádzaniu čiernych nerozpustných polymérov eumelanínu. Rozdiel v reakciách spôsobuje že prírodné jednotky obsahujú produkty odvodené od DHICA a syntetické vytvorené z DOPA pozostávajú z väčšieho množstva jednotiek DHI. Na obrázku č. 17 je schematický znázornený proces nadväznosti týchto reakcií. (d'Ischia *et al.*, 2014)



Obr. č. 17: Biosyntetické a syntetické cesty pre eumelanín, neuromelanín a polydopamín (d'Ischia *et al.*, 2014)

Prírodné eumelaníny a syntetické DOPA melaníny sú štrukturálne odlišné z dôvodu enzýmovo riadenej inkorporácie vysokého podielu karboxylovaných jednotiek v prírodnej variante DHICA. Predpokladá sa že melanín DHI pozostáva prevažne z polárnych oligomérov, zatiaľ čo melanín DHICA je stavaný zo skrútených lineárnych oligomérov s rotáciou okolo medziprvkových väzieb. PDA sa od melanínu DOPA líši tým, že mu chýbajú karboxylované jednotky a od DHI melanínu zas prítomnosťou rôznych podielov necyklizovaných jednotiek obsahujúcich amíny. (d'Ischia *et al.*, 2014)

DOPACHINÓN je počiatočným kontrolným bodom pre DOPA. Rýchlo sa cyklizuje za vzniku DOPACHRÓMU. Zároveň je cieľom pre reaktívne nukleofilné druhy môže byť využitý pri modifikovaní vlastností DOPA melanínu. DOPACHRÓM pri neutrálnom pH dáva DHI ako hlavný produkt, ale v prítomnosti kationov kovov sa izomerizácia odkláňa smerom k nedekarboxylatívnej ceste tvorby DHICA. Pri biosyntéze eumelanínu pôsobením tyrozinázy sa premieňa tyrozín na DOPACHINÓN cez DOPA. DOPA nevzniká priamo z tyrozínu, ale nepriamo redukciou DOPACHINÓNU. DOPACHINÓN podlieha vnútro molekulárnej cyklizácii, pričom neenzymaticky vzniká leukochróm, ktorý sa DOPACHINÓMOM ďalej oxiduje na DOPACHRÓM. DOPA CHRÓM SA KONVERTUJE NA DHI AKO HLAVNÝ PRODUKT A DHICA AKO VEDĽAJŠÍ PRODUKT. ĎALŠIA OXIDÁCIA DHI NA MELANOCHRÓM A JEHO PRÍPADNÁ POLYMERIZÁCIA VEDIE K MELANÍNOVÝM PIGMENTOM. Na obrázku č. 18 je jednoduchý schematický nákres cyklickej premeny medzi DOPACHINÓMOM a DOPACHRÓMOM. (d'Ischia *et al.*, 2014)

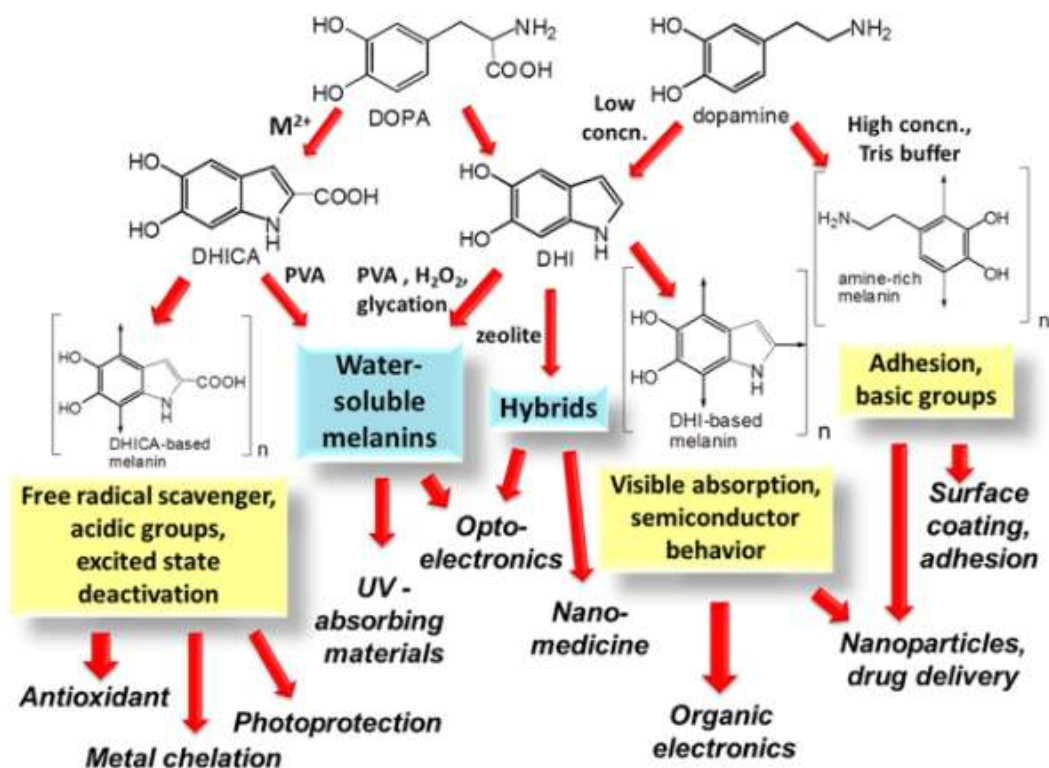


Obr. č. 18: Schéma ukazujúca DOPAchínón a DAchróm ako hlavné kontrolné body pre chemickú manipuláciu s DOPA melanínom. (d'Ischia *et al.*, 2014)

Eumelaníny a PDA sa vyznačujú značnou chemickou neusporiadanosťou na rôznych úrovniach. Modifikácia monoméru DA sa môže vykonávať na rôznych úrovniach. Bolo preukázané, že norepinefrín (NE) vytvára ultratenké povlaky polynorepinefrínu (PNE) v dôsledku prítomnosti  $\beta$ -OH skupiny, ktorá je príčinou rozsiahleho oxidačného rozkladu bočného reťazca katecholamínu počas autoxidácie. (d'Ischia *et al.*, 2014)

Vďaka podobnej oxidačnej ceste má PDA s eumelanínom spoločné rôzne fyzikálno-chemické vlastnosti. Stavebnými kameňmi eumelanínu sú DHICA a DHI. Eumelanín a PDA majú mimoriadne blízke absorpčné spektrá, ktoré pokrývajú celý rozsah vlnových dĺžok v UV-vis oblasti elektromagnetického spektra. Ich fluorescenčný kvantový výťažok je extrémne nízky, pričom väčšina absorbovaného svetla sa premieňa na teplo. Tento proces prebiehajúci v koži, ktorá po vystavení slnečnému žiareniu podlieha zahrievaniu. Pokiaľ ide o PDA, táto vlastnosť je základom aplikácií ako možného fototermického materiálu. S eumelanínom má značnú podobnosť pretože DHI (a jeho oxidované formy) sú kľúčovým stavebným prvkom oboch prvkov. (El Yakhlifi and Ball, 2020)

Konjugácia dopamínu s cysteínom vedie k 5-(S)-cysteinylda, ktorý zvyšuje fotoreakciu PDA povlakov a vytvára hybridný fotokapacitný/rezistentný kov-izolátor-polovodič. Kopolymerizácia dopamínu s aromatickými amínmi, ako je 3aminotyrozín alebo p-fenylendiamín, sa použil na modifikáciu elektrických vlastností PDA. (d'Ischia *et al.*, 2014)



Obr. č. 19: Zjednocujúca stratégia prispôsobenia syntézy PDA a eumelanínu pre ciele použitia. (d'Ischia *et al.*, 2014)

Na štruktúru eumelanínov vplyvajú viaceré parametre ako je koncentrácia substrátu, povaha oxidantu, reakčné médium a prítomné aditíva. Tiež je závislá od postsyntetických procesov. Oxidácia sa môže vykonávať s kyslíkom v alkalických podmienkach, s chemickými oxidantmi alebo elektrochemicky, pričom v závislosti od podmienok sa zloženie a vlastnosti materiálu môžu líšiť. Hoci je prostredie zvyčajne alkalické, v kombinácii s chemickými oxidantmi sa môžu použiť kyslé podmienky, aby sa inhibovala intramolekulárna cyklizácia výsledného DAchinónu. (d'Ischia *et al.*, 2014) Koletív d'Ischia pripravil schématické zjednotenie experimentálnych prístupov pre manipuláciu s eumelanínom. Prehľad je zobrazený na obrázku č. 19. Návrh experimentov založený na správnom výbere substrátov, parametrov a podmienok môže umožniť výkon efektívnej kontroly nad eumelanínom a štruktúrou PDA, čo môže slúžiť na vylepšenie vlastností.

### 3 NANOVLÁKNA

V súčasnej dobe nachádzajú nanovlákná vďaka svojim unikátnym vlastnostiam stále viac uplatnení a to nie len v experimentálnom výskume a vývoji, ale tiež v priemyselnej praxi. Tento trend s ich zvyšujúcou sa popularitou sa neustále ďalej rozvíja cez rôzne odbory. Príkladom je medicína spolu s tkanivovým inžinierstvom, biotechnológia, analytická chémia, energetika, plynová a kvapalinová filtrácia, textilný-konfekčný priemysel. Vyrábajú sa predovšetkým z polymérov. V súvislosti s ich interakciou v ľudskom tele sa do popredia viac dostáva biologicky odbúrateľná a biokompatibilná vlastnosť polymérov. Unikátnymi vlastnosťami smerom k ich využitiu, a to v širokej škále aplikácií, je ich veľmi jemná, vysoko porézna štruktúra v kombinácii s veľmi malými jednotlivými pórami a z toho vychádza vysoká hodnota špecifického merného povrchu. Tieto vlastnosti zaisťujú nanovlákným štruktúram veľmi dobrú krivosť, separačnú/filtračnú/sorpčnú schopnosť, dobrú biokompatibilitu spolu so schopnosťou bunkovej adhézie, rovnako ako široké možnosti ich ďalšej funkcionalizácie vďaka širokej škále východziech materiálov použiteľných k ich výrobe.

#### 3.1 Spôsoby výroby

Nanovlákná sú v dnešnej dobe charakterizované ako dĺžkové útvary s rozmerom aspoň v jednej ose (priemer) menším ako 300nm, podľa niektorých defícií 100 nm. U vlákien s priemerom v rozmedzí 300-100 nm sa dá hovoriť skôr o submikronových vlákien. Priemer vlákna závisí od techniky výroby a použitého polyméru. Ich dĺžka sa môže pohybovať od niekoľkých nanometrov až po niekoľko mikrometrov. Kvalita nanovlákn závisí od všetkých faktorov ktoré vstupujú do procesu výroby. Výsledné vlastnosti predurčuje okrem výberu polyméru aj samotný tvar vlákna, jeho priemer a povrchová štruktúra. V tejto súvislosti sa sleduje aj stabilita a morfológia vzniknutých spojných bodov. Nanovláknenné vrstvy sa potom dostávajú k špecifickému použitiu podľa výsledných efektov v objeme aj povrchu nanovláknenných vrstiev. Okrem pevných plných vlákien z polymérov sa produkujú aj tvarovo špecifické napríklad duté, tuhé alebo nanorúrky. (Anusiya and Jaiganesh, 2022)

Ako už bolo spomenuté môžu sa vyrábať z prírodných polymérov. V oblasti tkanivového inžinierstva sa používa napríklad kolagén, celulóza, hodvábný fibroín, želatína, keratína, chitosan, a syntetických polymérov, ako je polyuretán, kyselina polymliečna, kyselina polymliečna a glykolová, polykaprolaktón. V biomedicínskej oblasti sa použitie prírodných polymérov obmedzuje z dôvodu nevyvážených mechanických vlastností a stability. Preto sa k aplikáciám pripúšťa aj syntetická forma ale najmä ich vzájomná kombinácia. (Liu *et al.*, 2023)

V príprave nanovláknien existuje mnoho delení. Definovanie vzniku nanovláknien je vždy prepojený z formovaním vrstvy. Spravidla je možné určiť jednotlivé spôsoby podľa technológie výroby. K najznámejším technikám patrí elektrické zvlákňovanie, odstredivé zvlákňovanie či meltblown. Možno tu zaradiť aj drawing. Tieto techniky zahŕňajú



prípravu roztoku polyméru alebo taveniny. Ďalšie techniky fungujú na princípe fázovej separácie či tlaku. Nanovlákná sa dajú vytvoriť aj štiepením existujúceho vlákna na menšie časti. Známy je aj spôsob pretláčania cez matricu s pórami o nanorozmeroch. Netradičnou metódou je samoorganizovanie (Self-assembly), kedy sa nanovlákná formujú z malých častíc cielene zoskupujúcich a formujúcich sa. Využitie fyzikálnych vlastností predstavuje metóda fázovej separácie. Najbežnejšie využívanou metódou vo vedeckej praxi je spomínané elektrické zvlákňovanie. V súčasnosti existuje hybridné zvlákňovanie, ktoré spolu kombinuje viaceré princípy ako elektrické, tlakové a zároveň odstredivé.

### 3.2 Elektrické zvlákňovanie

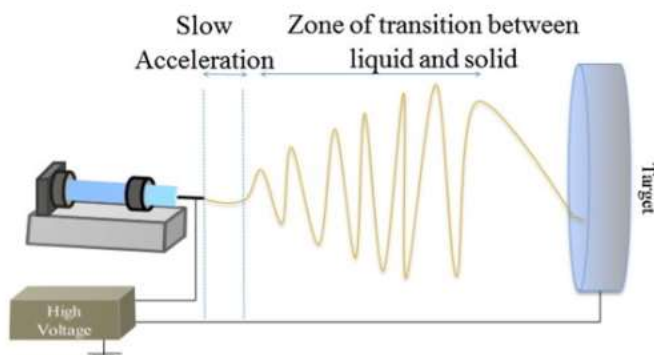
Metóda produkcie vlákien formou elektrického zvlákňovania sa dostala do popredia začiatkom tohto storočia spolu so vznikom prvého patentu na výrobu nanovláknien v priemyselnom meradle. Zvýšený záujem o rozšírené aplikácie nanovláknenných materiálov zaznamenávame hlavne posledných desať rokov. Vznikli možnosti ako syntetizovať nové výstupné materiály, rovnako sa vyvinuli metódy kontroly štruktúr a usporiadania vlákien počas elektrického zvlákňovania. Najnovšie uplatnenie nanovláknenných vrstiev smeruje do oblasti energetiky a biomedicíny.

Elektrické zvlákňovanie je elektrohydrodynamický spôsob prípravy nanovláknien (obvykle o priemere stoviek nanometrov) najčastejšie z roztokového prekursoru skladajúceho sa z polyméru rozpusteného v príslušnom organickom rozpúšťadle alebo zmesi rozpúšťadiel. (Sultan Lipol and Rahman, 2016) Princíp elektrického zvlákňovania je založený na aplikácii silného elektrodynamického poľa na polymérny roztok, kde je v polyméri indukovaný náboj a v roztoku dochádza k odpudzovaniu náboja. Nad určitou kritickou hodnotou aplikovanej sily elektrického poľa, ktorá prekonáva roztokové kapilárne sily, sa povrch kvapaliny samoorganizuje v mezoskopickom meradle. Túto nestabilitu predstavuje rastúca stacionárna kapilárna vlna s formujúcimi sa „Taylorovými kužeľmi“ prichádzajúc v prvej-stabilnej fáze do trysiek polymérneho roztoku, ktoré sa s nasledujúcou nestabilnou fázou štiepenia za intenzívneho odparovania rozpúšťadla. Sformované trysky sa pohybujú smerom k elektricky vyjadrenému kolektoru, kde sa ukladajú s náhodnou orientáciou do podoby planárnej štruktúry na báze netkanej textílie. Na samotný proces vplýva mnoho ďalších faktorov. Patrí medzi ne samotná viskozita roztoku, typ zvlákňovaného polyméru, počet a tvar elektród, teplota roztoku alebo taveniny, atmosférické prostredie a podobne. (S. J. Russell, 2007)

Základná schéma laboratórneho konceptu elektrického zvlákňovania využívajúca jednosmerný prúd je založená na oceľovej polarizovanej kapiláre používanej ako spinnerety je znázornená na obrázku č. 20. (Ge *et al.*, 2023)

Dnešné priemyselné konfigurácie používané na proces elektrického zvlákňovania sa skladajú z vysokonapäťového jednosmerného alebo striedavého zdroja, polarizované oceľové elektródy prekryvané kontinuálne tenkou vrstvou polymérneho roztoku dodávaného čerpadlom a kolektora v podobe podkladovej netkanej textílie

zachytávajúcej nanovlákná. Tieto technológie využívajú najmä princíp elektrického zvlákňovania z voľnej hladiny. (Xue *et al.*, 2019)



Obr. č. 20: Základná schéma pre elektrické zvlákňovanie (Ge *et al.*, 2023)

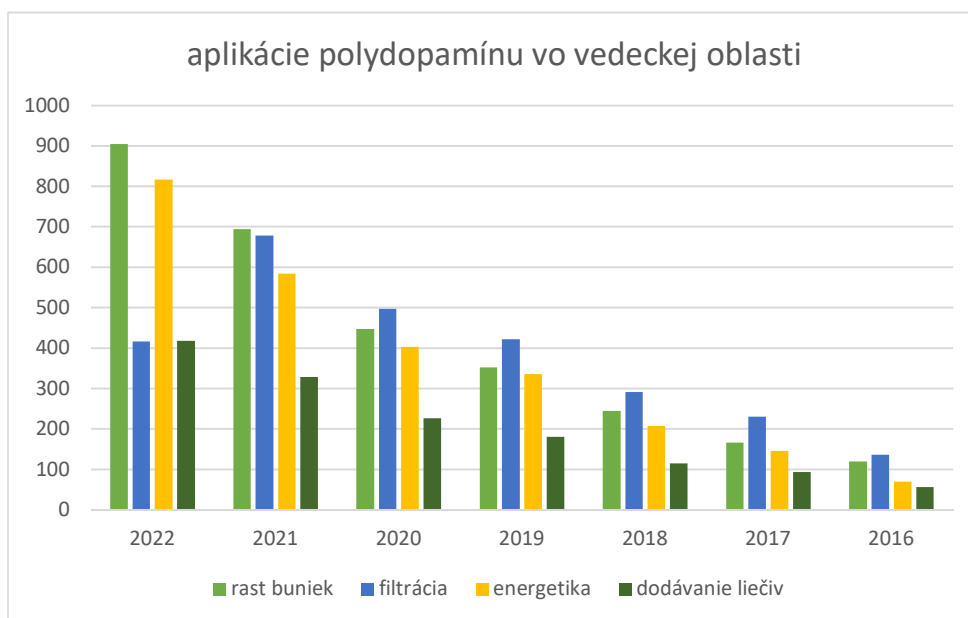
Takto vytvorené polymérne nanovláknenné produkty nachádzajú široké uplatnenie v mnohých oblastiach. Vynikajú najmä poréznu štruktúrou, vysokým pomerom merného povrchu k hmotnosti a tiež povrchovými vlastnosťami. Jednotlivé vlákna sú tenké a vytvárajú dobre spojené priechodné póry malých rozmerov. Podľa spôsobu prípravy sa líšia morfológiou. Nanovláknenné vrstvy pripravené elektrickým zvlákňovaním majú veľký potenciál k funkcionalizácii prostredníctvom chemicko-fyzikálnych úprav a povrchových nánosov. (Yoo, Kim and Park, 2009)

Významné uplatnenie nachádzajú nanovláknenné produkty v tkanivovom inžinierstve. Tento interdisciplinárny odbor zahŕňa použitie živých buniek za účelom vybudovania nového tkaniva prípadne jeho regeneráciu. Použitie nanovláknenných nosičov vytvorí akýsi stavebný priestor napodobňujúci extracelulárne prostredie buniek. Pre správne fungovanie množenia sa a rastu buniek je nevyhnutné takýto vlákenný nosič prispôbiť čo najviac živému prostrediu čím sa zatriktívni pre živé bunky a podporí ich proliferáciu a diferenciáciu. K tomuto účelu sa využíva funkcionalizácia nanovláknenných nosičov. Samotné nanovláknenné vrstvy sú vhodné pre tento účel práve pre vnútornú štruktúru bohatého členenia pórov, tenkých vlákien a ich priestorovej hustote čo poskytuje veľa povrchu bunkám pre ich interakciu a teda aj predpoklad k ich hustejšiemu prepojeniu. Vzhľadom na jemnosť vlákien v kombinácii s vhodne zvoleným biodegradabilným polymérom dochádza ich rýchlemu rozpadu čím sa uľahčuje telu odbúratelnosť nežiaducich látok. Tento čas by mal byť adekvátny vzniku nového tkaniva. Elektrostatickým zvlákňovaním sa dajú vytvárať matrice ktoré sa svojou morfológiou veľmi podobajú na ľudskému extracelulárnemu matrix (medzibunkovej hmote). Smer a zarovnanie vlákien vplýva na orientáciu buniek. Úprava povrchu vlákien a pridávanie aditív priamo do polymérnej zmesi podporujú proces rastu. Najčastejšou úpravou je zníženie hydrofóbnosti povrchu. (Fang *et al.*, 2008)

## 4 APLIKOVANIE VO VÝSKUMOCH

### 4.1 Nanášanie polydopamínových povlakov

S postupnými objasneniami detailnej štruktúry katecholamínov sa mení rozsah aplikácií so zámerom čo najviac využiť potenciál PDA. Graf č. 2 sprehl'adňuje vývoj v oblasti výskumu aplikovania PDA za posledných 7 rokov a aktuálne trendy smerovania.

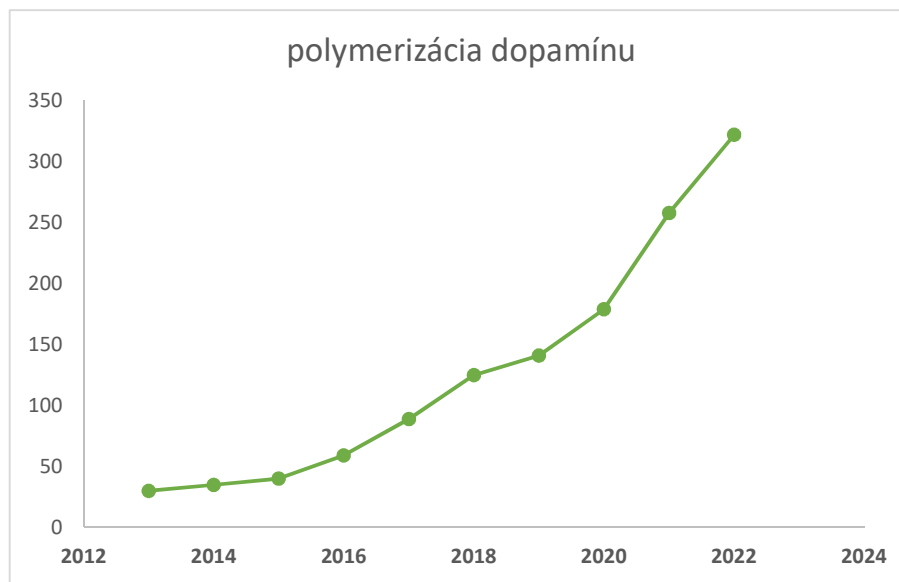


Graf č. 2: Zastúpenie vedeckých článkov referujúcich o aplikovaní polydopamínu za posledných 7 rokov. Trendová línia preukazuje zvýšený záujem o aplikovanie vo výskumoch v oblasti energetiky a bunkového rastu naopak pokles je evidovaný v oblasti filtrácie. Zo zdrojového portálu Science direct. (<https://www.sciencedirect.com/>)

V problematike povlakovania predstavujú katecholy dôležitý a všestranný stavebný prvok pre ich schopnosť mnohostranne interagovať so substrátmi rôznych druhov. V povrchovej modifikácii predstavujú univerzálnu kotvu. V prvom rade vystupujú v úlohe adhezívnych medzičrvkov, tiež ale aj ako stavebné jednotky pre prípravu polymérov s rozšírenými vlastnosťami. Katecholy zastávajú významnú úlohu kotviacich skupín. V organickej chémii môžu katecholy pôsobiť v koordinačnej chémii ako antioxidačné či chelatačné činidlá, prípadne ako lapače radikálov. (Faure *et al.*, 2013) DOPA má silnú schopnosť adhézie rôznymi organickými a anorganickými povrchmi. Adhézia jednej molekuly vykazuje silu na úrovni kovalentnej väzby. (Lee, Lee and Byun, 2015)

Samopolymerizácia DA na PDA je jednoduchý jednostupňový proces, ktorý nezahŕňa organické rozpúšťadlá, čím sa ukazuje veľký potenciál na imobilizáciu bioaktívnych látok. (Godoy-Gallardo *et al.*, 2020). Primárne objavenou tvorbou povlaku bol fakt že sa PDA dokáže spontánne spolymerizovať z roztoku dopamínu a hydrochloridu

v alkalických podmienkach. Tento postup publikovaný v roku 2007 kolektívom Messersmith je doteraz najčastejšie reprodukovateľný spôsob povlakovania. (Tang *et al.*, 2021) Postupný nárast záujmu vo vedeckom svete o aplikovanie polydopamínových povlakov na nanovlákná sú zhrnuté v grafe č. 3, ktorý zobrazuje jednoznačný nárast tejto techniky za uplynulých 10 rokov.



Graf č. 3: Zastúpenie vedeckých článkov referujúcich o technike funkcionalizovania nanovláknenných vrstiev polydopamínom za posledných 10 rokov. Zo zdrojového portálu Science direct. (<https://www.sciencedirect.com/>)

Neustálou aktualizáciou laboratórnych techník sa navrhlo viac modelov, ktoré naznačujú, že pri tvorbe PDA zohráva veľkú úlohu kovalentná polymerizácia aj nekovalentné samosporiadanie. Najčastejšie používaným oxidačným činidlom na iniciáciu polymerizácie bol kyslík. Okrem atmosférického kyslíka sa využívajú aj kovové oxidanty (ióny medi, zinku alebo niklu) a nekovové oxidanty (periodát sodný, persíran amónny, peroxid vodíka a podobne).

Samotná depozícia PDA zahŕňa najprv oxidáciu na dopamínchinón, ktorý ďalej intermolekulárnou cyklizáciou vytvára DHI. V skratke sa celý proces dá zhrnúť do dvoch krokov a nimi sú oxipolymerizácia a adhézia k povrchu. (Qiu, Yang and Xu, 2018) Nanášanie vrstiev PD je metóda aplikovateľná na najširšie spektrum povrchov vrátane látok s nízkou povrchovou energiou. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018) PDA môže byť tiež syntetizované elektropolymerizáciou, ktorá vykazuje vyššiu rýchlosť nanášania v porovnaní s typickou metódou samopolymerizácie. (Tang *et al.*, 2021)

Reakcie podobné oxidačnej autopolymerizácii môžu podstúpiť aj iné príbuzné katecholamíny, ako napríklad DOPA a noradrenalín. (Lyu *et al.*, 2017) Oxidačná polymerizácia DOPA na vytvorenie polyDOPA povlakov je podobnou metódou ako pri

polymerizácii PDA. Vo všeobecnosti je ale menej úspešná. Predpokladá sa, že je to v dôsledku elektrostatických odpudivých interakcií medzi susednými skupinami karboxylových kyselín, ktoré môžu narušiť polymerizáciu a agregáciu polygomérnych podjednotiek polyDOPA počas tvorby povlaku. V laboratórnych podmienkach sa vrstvy polyDOPA podarilo úspešne aplikovať napríklad na membránové substráty (PE, PVDF, PTEE). Jednotlivými pokusmi sa ukázalo, že väčšina obmedzení tvorby povlakov polyDOPA na ušľachtilých kovoch, polyméroch a oxidoch sa dá prekonať použitím podmienok depozície s vysokou iónovou silou. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018)

Počas ponoru substrátu do roztoku DA dochádza k spontánnej depozícii PDA. Tento povlak sa môže použiť ako základný náter na ktorý sa nanáša ďalšia vrstva takzvaného sekundárneho povlaku. To rozširuje variabilitu funkcionalizácie. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018) Metódy povlakovania použitím PDA môžu byť v niektorých prípadoch dopĺňované LbL nanášaním. Napríklad katecholové alebo katecholamínové skupiny, ktoré sú stavebnými prvkami PDA, boli chemicky viazané alebo koncovo funkcionalizované na polyméry pre následné použitie pre LbL. Zvyšuje to stabilitu a substrátovú univerzálnosť. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018)

Povlaky PDA umožňujú variabilnú postfunkcionalizáciu na vsádzanie ďalších látok na povrch materiálov prostredníctvom kovalentných či nekovalentných interakcií a povrchovo iniciovanej polymerizácie živých radikálov. Bývajú to syntetizované polyméry, anorganické nanočastice, proteíny, polysacharidy, rastové faktory, ale aj hydroxyapatit. Obmedzením tejto techniky je, že sú potrebné aplikátory s aminovými alebo tiolovými skupinami, zvyčajne uvádzané ako medzivrstvy. (Qiu, Yang and Xu, 2018) Prispôsobenie funkčnosti nanosením ďalšej vrstvy je využitím vnútornej chemickej reaktivity povrchu PDA. Pre tento prístup sú vhodné skoro všetky proteíny, peptidy, koncové funkcionalizované oligonukleotidy a veľká populácia malých molekúl. Molekuly vrátane syntetických polymérov možno modifikovať alebo syntetizovať s funkčnými skupinami, tie umožňujú ďalej reakcie s PDA. Reakčné podmienky pre štepenie týchto vrstiev sú rovnaké ako pri samotnej tvorbe PDA v rátane pH a použitého pufru.

Prvé štúdie v tejto oblasti zahŕňali polyméry s tiolovým alebo aminovým zakončením vštepené na povrchy potiahnuté PDA prostredníctvom tiolkatecholových alebo aminokatecholových aduktov adičnými reakciami typu Michaelovou adíciou alebo Schiffovými bázami, s následným rozšírením na biomolekuly. Na povrchové naviazanie molekúl s aminovými a tiolovými skupinami slúži metóda vyviazovania prevedená v jednom kroku. Jedná sa o zjednodušený proces tvorby PDA. Dopamín a polymér prípadne biomolekuly sa nanášajú z jedného roztoku súčasne. Agregácia PDA je do značnej miery potlačená, pretože dopamín asociuje s cieľovou molekulou. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018)

PDA vrstva vykazuje vnútornú chemickú reaktivitu, ktorá pochádza z prítomnosti katecholchinónových častí a radikálov, na ktoré spontánne reagujú molekuly

s nukleofilnými skupinami, ako sú amín (-NH<sub>2</sub>) a tiolát (-S-). PDA povlak je redoxne aktívny, čo umožňuje bez elektrickú metalizáciu a povrchovú syntézu kovových nanočastíc. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018)

Počas tvorby PDA sa však do vznikajúcej vrstvy nevyhnutne začlení Tris a nezreagovaný dopamín, čo môže zmeniť fyzikálno-chemické vlastnosti povlaku a zmeniť ďalšie chemické reakcie. Aby sa predišlo začleneniu Tris pufru do štruktúry, môžu sa namiesto toho použiť organické pufre bez obsahu amínov (napr. bicín) alebo anorganické (napr. fosfátové), ale kodepozícia PDA nanoagregátov môže byť problematickejšia ako pri použití osvedčeného Tris pufru.

Spustiť tvorbu PDA môže generovanie radikálových druhov poskytovaním vonkajšej energie, ako je ultrafialové (UV) svetlo. Použitie poskytuje výhodu v podobe kontroly počiatku a ukončenia depozície. Svetlom indukovaná metóda je účinná od mierne kyslého až po zásadité pH. Ďalšou metódou je použitie mikrovlnného žiarenia, ktoré urýchľuje proces.

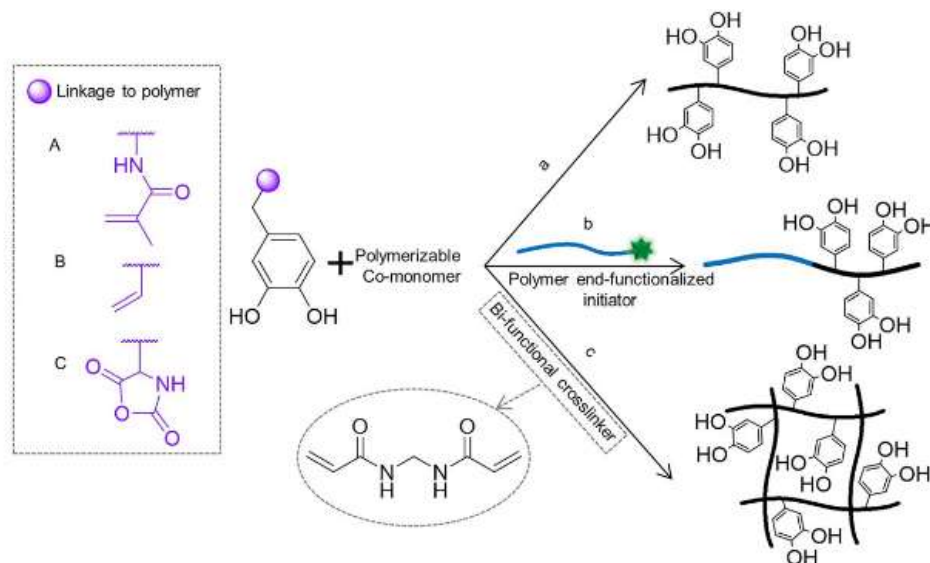
Polydopamínové filmy možno nanášať na takmer akýkoľvek substrát, pričom po približne 15 hodinách ponorenia do prevzdušneného a mierne zásaditého (pH = 8,5) roztoku dopamínu, NE, alebo DOPA, vzniká povlak s hrúbkou približne 40 nm. (Ball *et al.*, 2012) K vytvoreniu povrchových vrstiev sa značne používa NE. Povlaky z nich bývajú rovnomerné a ultratenké. Ďalšia hydroxylová skupina v NE umožňuje polymerizáciu laktónových monomérov s otvorením kruhu v dvojstupňovej modifikácii.

K vytvoreniu funkčného derivátu DA slúži substitúcia v polohe primárneho amínu. Konjugácie s primárnym amínom vnútorne bránia tvorbe indolu, čo ovplyvňuje mechanizmus tvorby PDA. Môže ale dôjsť k povrchovej modifikácii cestou konjugácie katecholu na katechol. Jednou funkčnou skupinou na modifikáciu v danej polohe je 2-brómizobutyrylbromid na iniciáciu radikálovej polymerizácie s prenosom atómov (ATRP). Ďalej pyrol, pyridín a metakrylát sú užívané ako substituenty k funkcionalizácii povrchu. Substituovaným je tiež 6-nitrodopamín, ktorý je štiepateľný svetlom a používa sa pri príprave inteligentných povrchov reagujúcich na svetlo. Slúži na funkcionalizáciu povrchov anorganických nanočastíc. V porovnaní s dopamínom je 6-nitrodopamín skôr odolný voči oxidácii v dôsledku prítomnosti elektronegatívnych nitroskupín. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018)

Pri príprave katecholom funkcionalizovaných polymérov je dôležitá ochrana bočných reťazcov katecholu pred oxidáciou a nežiadúcimi chemickými reakciami v priebehu samotnej syntézy, pretože to môže znížiť ich reaktivitu. Ochranná skupina by mala ostať stabilná. Technika deprotektie by sa mala zvoliť na základe zloženia konečného polyméru tak, aby sa jeho funkčnosť neznížila počas procesu. Pri viacstupňových prístupoch chemickej syntézy sa využívajú protektívne skupiny (ako sú acetyl, acetonid, metyléter, a podobne). Katechol tvorí komplex reagujúci na pH s kyselinou boritou, ktorá môže tiež pôsobiť ako dočasná ochranná skupina v zásaditom vodnom roztoku. (Kord Forooshani and Lee, 2017)

Pri priamej funkcionalizácii sa katechol spája s polymérom funkčnými skupinami ako sú (-NH<sub>2</sub>), (-COOH), (-OH), za vzniku amidu, ureátu, esteru. To je možné použiť pre polyméry s rôznou stavbou, kde je katechol pripojený ako terminálna funkčná skupina. Blokové kopolyméry môžu byť ďalej očkované katecholom pozdĺž ich polymérnych reťazcov (pri spájaní rozvetvených lineárnych polymérov). Blokové kopolyméry vďaka samousporiadaniu hydrofóbných blokov vykazujú lepšiu tepelnú odolnosť a menšie botnanie. Kovalentne možno pripojiť katechol s kyslými alebo aminovými funkciami k biopolymérom, ako sú dextrán, chitosan, kyselina hyalurónová, želatína a alginát. Tak vznikajú bioadhezíva vhodné na aplikácie v oblasti tkanivového inžinierstva a dodávania liečiv. Napríklad eugenol sa môže tiež priamo spájať so širokou škálou polymérov prostredníctvom svojej aktívnej terminálnej alkénovej skupiny pomocou chémie tiolu. Chránený eugenol môže byť na konci funkcionalizovaný tiolom, čím sa vytvorí monomér chránený katecholom, ktorý sa využíva k spojeniu s polymérom. (Kord Forooshani and Lee, 2017)

Monomér modifikovaný katecholom možno polymerizovať prostredníctvom tepelne aktivovanej alebo fotograficky iniciovanej voľnoradikálnej polymerizácie za vzniku polymérov na báze akrylátov. Príkladom je metakrylamid (DMA). Obdobným spôsobom môžu byť kopolyméry na báze polystyrénu tiež vytvorené kopolymerizáciou vinylovej skupiny obsahujúcej katechol. Trojrozmerná polymérna sieť môže byť vytvorená kopolymerizáciou bifunkčným siet'ovacím činidlom.



Obr. č. 21: Katechol modifikovaný funkčnými skupinami polymerizovateľného metakrylátu (A), vinyly (B) a N-karboxyanhydridu (C). Polymerizácia katecholom modifikovaných monomérov za vzniku lineárneho homopolyméru alebo náhodného kopolyméru (a), blokového kopolyméru v prítomnosti polymérneho siet'ovacieho činidla (Kord Forooshani and Lee, 2017)

V prítomnosti molekulárneho kyslíka bočný reťazec katecholu čiastočne inhibuje a spomaľuje voľnoradikálovú polymerizáciu. Na minimalizáciu inhibičného účinku kyslíka sa preto vyžaduje použitie katecholových ochranných skupín alebo eliminácia

molekulového kyslíka, aby sa vytvorili polyméry s vysokým obsahom katecholu a molekulovou hmotnosťou. Účinným prístupom je aj oddelenie bočného reťazca katecholu od polymerizovateľnej akrylátovej skupiny s využitím schopnosti blokových kopolymérov samoorganizovať sa do hydrofilných a hydrofóbných domén. (Kord Forooshani and Lee, 2017)

Typ oxidantu, koncentrácia oxidantu a pH sú hlavnými faktormi ovplyvňujúcimi oxidačné siet'ovanie. Enzýmom indukované siet'ovanie vedie k polymerizácii fenylových skupín a rýchlosť a stupeň polymerizácie sa zvyšuje so zvyšujúcou sa koncentráciou enzýmu. Počas oxidácie katecholu vznikajú reaktívne formy kyslíka. Jeho uvoľňovanie môže byť zdrojom cytotoxicity, pričom účinnosť závisí od koncentrácie. Preto je potrebná presná regulácia týchto látok generovaných z biomateriálu obsahujúceho katechol v závislosti od zamýšľaného použitia. (Kord Forooshani and Lee, 2017)

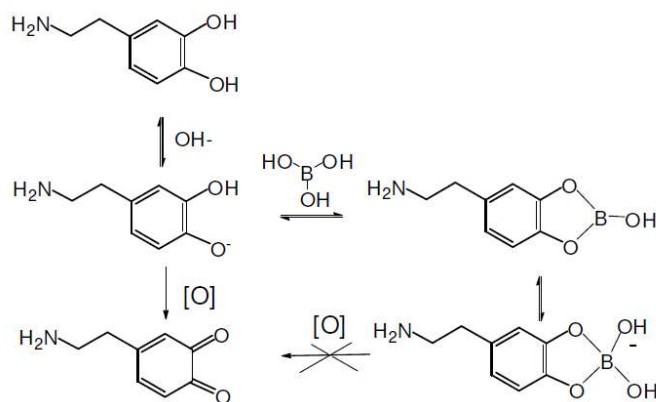
Oxidačný proces vedúci k povlakom PDA z roztokových procesov, oxidácie a polymerizácie, vedie ale aj k tvorbe nepoužiteľnej zrazeniny v roztoku. To je hlavnou nevýhodou vzhľadom na vysokú cenu katecholamínov. Úsilie sa preto venuje aj tomu, aby sa zabránilo takémuto procesu zrážania a aby sa kontrolovalo samousporiadanie oxidačných produktov dopamínu (a iných katecholamínov) v roztoku s cieľom získať stabilné nanokoloidy. (El Yakhlifi and Ball, 2020)

Vďaka podobnému chemickému zloženiu sú PDA a syntetický eumelanín predmetom rastúceho záujmu ako látky absorbujúce UV žiarenie, antioxidanty a vychytávače voľných radikálov. Tieto vlastnosti sú obzvlášť zaujímavé v koloidnom stave za predpokladu, že oxidačné produkty katecholamínov môžu byť stabilizované proti agregácii a flokulácii. Okrem toho má eumelanín v koži vždy kontrolovanú hierarchickú veľkosť a je obklopený proteínmi. To nie je prípad PDA, ktorý je amorfnou zrazeninou, keď sa vyrába bez prídavných látok. Je preto prirodzené, že sa do dopamínu pridávajú vhodne zvolené prísady, aby sa kontroloval proces jeho samousporiadania. (El Yakhlifi and Ball, 2020)

Pri vyššej koncentrácii rozpustených katecholamínov, ktorá je potrebná na dosiahnutie lepšieho výt'azku nanočastíc, sú získané koloidy príliš veľké na to, aby sa stabilizovali a tak dochádza k ich zrážaniu. Ak je však koncentrácia katecholamínu extrémne nízka, možno dosiahnuť režim, v ktorom sa tvoria malé a stabilné nanočastice bez usadzovania filmu na stenách reakčnej kadičky. Spôsob ako zlepšiť povrchový náboj vo vode rozpustného melanínu, bolo vykonať ich syntézu v prítomnosti vyššieho parciálneho tlaku v kyslíku čo umožňuje zvýšiť počet karboxylových skupín na získaných koloidoch. Pridanie aditív do roztoku dopamínu, ako sú povrchovo aktívne látky, polyméry, polyelektrolyty alebo niektoré proteíny, umožňuje získať PDA kontrolovanej veľkosti. (El Yakhlifi and Ball, 2020)



Metódou na kontrolu tvorby PDA a zabránenie zrážaniu je použitie kyseliny boritej ako adjuvantu. Dokáže zastaviť usadzovanie PDA na povrchoch a zároveň kontrolovať samousporiadanie PDA v roztoku, aby sa získali stabilné koloidné agregáty. Kyselina boritá vytvára silné vodíkové väzby s catecholovými časťami, čo má za následok vysoké zvýšenie oxidačného potenciálu dopamínu. Pridanie kyseliny boritej do roztokov dopamínu po určitom čase trvania oxidácie a samousporiadania umožňuje zastaviť rast nanočastíc na báze PDA na kontrolovanú a reprodukovateľnú veľkosť. Spôsob akým kyselina boritá vstupuje do procesu je znázornený na obrázku č. 22 schematickou rovnicou. (El Yakhlifi and Ball, 2020)



Obr. č. 22: Interakcia dopamínu s kyselinou boritou a inhibičný účinok tvorby komplexu oxidáciou na chinón a tvorby PDA. (El Yakhlifi and Ball, 2020)

Na rýchlu prípravu polydopamínu v aeróbných alebo anaeróbných podmienkach, tiež v mierne kyslých vodných roztokoch a pri izbovej teplote, možno použiť široký repertoár oxidantov. Aj použitie silných oxidantov, ako je periodát sodný, vedie k tvorbe PDA v oveľa kratšom čase. Ďalšia snaha o kontrolu veľkosti PDA nanočastíc spočíva v pridávaní buď silných vychytávačov voľných radikálov (napr. edaravón), alebo stabilných voľných radikálov počas syntézy, pričom obidve vedú k zmenšeniu veľkosti nanočastíc. (El Yakhlifi and Ball, 2020) Nielen molekuly ako povrchovo aktívne látky a peptidy, ale aj organické molekuly ako kyselina listová umožňujú usmerniť tvar nanoštruktúr na báze PDA na nanovláknach. Predovšetkým interakcie  $\pi$ - $\pi$  sú zodpovedné za takéto riadenie veľkosti a morfológie. (El Yakhlifi and Ball, 2020)

Mnoho výskumov sa odráža od protokolu, ktorý vyvinul Messersmith et al. (Lee *et al.*, 2007) s použitím roztoku dopamínu s konštantnou koncentráciou  $2 \text{ g L}^{-1}$  v prítomnosti Tris pufru pri hodnote pH 8,5. Po viacerých replikách tejto metódy bolo zistené, že hrúbka filmu dosahuje konštantnú hodnotu (takmer nezávisle od substrátu) približne 40 nm. Ball s kolektívom dokázal, že sa dajú naniesť aj hrubšie vrstvy, a to zvýšením koncentrácie dopamín nad  $5 \text{ g L}^{-1}$ , čo je maximálna koncentrácia ktorú testovali. Rast filmu však môže byť brzdený obmedzenou rozpustnosťou kyslíka vo vode. V skutočnosti sa kyslík redukuje a umožňuje spotrebovať elektróny produkované počas oxidácie dopamínu. Tento kolektív sa špeciálne zameril na skúmanie zmenu hrúbky a morfológie,

povrchovej energie a elektrochemických vlastností polydopamínového filmu v závislosti od koncentrácie roztoku dopamínu na kremíkovom substráte. Navrhli model na ukladanie polydopamínových filmov, opierajúci sa o rovnicu rýchlosti, ktorá zohľadňuje prítlačivé aj odpudivé interakcie medzi malými agregátmi polydopamínu na povrchu a v roztoku. Dôležitým zistením bol konštantný nárast maximálnej hrúbky filmu so zvyšujúcou sa koncentráciou roztoku dopamínu v celej škále testovania rozmedzí od 0,1 až 5 g L<sup>-1</sup>. Morfológia povrchu je rovnako výrazne ovplyvnená koncentráciou dopamínového roztoku, zatiaľ čo rôzne zložky povrchovej energie zostávajú neovplyvnené. Pomocou elektrochemickej impedančnej spektroskopie zaznamenali, že čím vyššia je počiatočná koncentrácia dopamínu, tým rýchlejšie sa vytvárajú kompaktné a nepriepustné filmy. (Ball *et al.*, 2012)

Prvým krokom reakčnej kaskády vedúcej k polydopamínu je oxidácia dopamínu na dopamínchinón so stratou dvoch protónov a dvoch elektrónov. Táto reakcia je spojená s redukciou kyslíka a celková redoxná reakcia je z termodynamického hľadiska nezávislá od pH, ale jej kinetika je od pH silne závislá. Ďalším zaujímavým zistením je, že polydopamínové filmy možno vyrábať aj elektropolymerizáciou odkysličených roztokov dopamínu. V tomto prípade sa maximálna hrúbka filmu roztokov dopamínu je podobná ako pri použití O<sub>2</sub> ako oxidantu. Ale priepustnosť oboch druhov filmov pre hexakvanoželezitanové anióny je výrazne odlišná, čo naznačuje, že elektropolymerizované filmy majú inú pórovitosť ako tie, ktoré sa získali v prítomnosti O<sub>2</sub>. (Ball *et al.*, 2012)

Kinetika depozície polydopamínových filmov sa skúmala pri konštantnej koncentrácii dopamínu a pri zmene pH, a následne pri konštantnom pH 8,5, ale pri zmene počiatočnej koncentrácie dopamínu. Tvorba polydopamínu na povrchu substrátu oxidu kremičitého sa výrazne spomalila pod hodnotou pH 6, čo potvrdzujú aj zistenia z ďalších zdrojov. Zároveň sa potvrdilo výrazné zvýšenie hrúbky filmu medzi pH 8,5 (najčastejšie uplatňovaná hodnota vo výskumoch) a pH 10,2. Maximálna hrúbka usadenín sa zvyšuje od pH 5 do pH 8,5 a zdá sa, že po pH 8,5 sa vyrovnáva. Počiatočná koncentrácia dopamínu v roztoku má výrazný vplyv na depozíciu filmu. (Ball *et al.*, 2012)

Drsnosť povlaku sa v závislosti od času výrazne zvyšuje a je vyššia pre filmy vyrobené pri 5 g L<sup>-1</sup> ako pre filmy vyrobené pri 1 g L<sup>-1</sup>. Častice ktoré prispievajú k obrovskému nárastu drsnosti, majú laterálne rozšírenie niekoľko stoviek nanometrov a je zrejme, že takýchto častíc je oveľa viac, keď sú filmy preparované z roztokov s vyššou koncentráciou dopamínu. Tieto častice prispievajú k obrovskému nárastu strednej kvadratickej drsnosti, ktorá sa na povrchu udržiava aj po rozsiahlom opláchnutí vodou, čo znamená, že sú vnútornou vlastnosťou polydopamínových filmov. Postupný rast filmu je sprevádzaný hromadením stále väčšieho počtu defektov, ktoré vedú k väčšej drsnosti. Čím vyššia je objemová koncentrácia dopamínu, tým vyššia je impedancia nánosov, čo ukazuje, že pri jednorazovom zvýšení koncentrácie dopamínu možno získať kompaktné a nepriepustnejšie vrstvy aj po krátkom čase depozície. (Ball *et al.*, 2012)

Model mechanizmu depozície polydopamínových filmov by mal zohľadňovať všetky vlastnosti. Hrúbka filmu sa zväčšuje so zvyšujúcou sa koncentráciou roztoku dopamínu.

Povrchová energia PDA povlakov je takmer nezávislá od koncentrácie dopamínu použitého na výrobu v skúmanom rozsahu koncentrácií. Čím sú filmy hrubšie, tým vyšší je modul ich impedancie. Filmy vytvorené pri nízkych počiatkových koncentráciách dopamínu sú menej drsné ako filmy vytvorené pri vyšších koncentráciách. Hladšie povrchy poskytujú roztoku menšiu efektívnu plochu povrchu, a teda aj menej miest, ktoré môžu interagovať s filmovými prekurzormi nachádzajúcimi sa v roztoku. Pri zvýšení koncentrácie roztoku zvýšenie intenzity prítlačlivých síl medzi malými agregátmi v roztoku a agregátmi na povrchu umožňuje, aby sa na povrchu usadzovalo viac agregátov a zvyšovala sa drsnosť filmu. Je tiež možné, že malé agregáty prítomné v roztoku difundujú na povrch a vytvárajú kovalentné väzby s hotovým nanoseným PDA filmom. Táto zvýšená drsnosť by mohla podporiť vznik väčšieho počtu aktívnych miest pre ďalšie depozíciu. (Ball *et al.*, 2012)

## 4.2 Použité činidlá-príklady

Kľúčové vývojové trendy v použití katecholamínov kládli dôraz na variácie jednotlivých vstupných elementov protokolu prípravy. Príkladom je výber pufru, rozpúšťadla, použitie chemických oxidantov, a podobne. V neposlednom rade proces využitia vonkajších podnetov rovnako vstupoval do procesu.

Pre pokusy nanášania povlakov v jednom kroku sa najčastejšie stretávame s použitím Dopamín HCl ako lacného komerčne dostupného činidla. Využíva sa vo forme kúpeľu alebo naprašovania na substrát. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018) Výber rozpúšťadiel je v niektorých prípadoch rozhodujúci. Prevažná väčšina správ o príprave PDA opisuje použitie vodných rozpúšťadiel a rozpúšťadiel s nízkym povrchovým napätím, ako sú metanol či etanol, ktoré sa môžu použiť na modifikáciu hydrofóbných a poréznych materiálov. Použitie organických rozpúšťadiel môže byť výhodné, napríklad zvýšením rýchlosti schnutia ošetrených substrátov rýchlym odparovaním, zabránením degradácie hydrolyzovateľných substrátov, koimobilizáciou vo vode nerozpustných molekúl.

V pôvodne spomínanej metóde ťahovania DA sa priemerne používajú 2 mg/ml hydrochloridu, rozpustené v Trisovom puffri s pH hodnotou v rozmedzí od 8,0 do 8,5. Okrem Tris pufru sa pri polymerizácii používajú sa aj fosfátové puffre alebo ďalšie organické puffre. Koncentrácia samotného DA je dôležitá pri riadení kinetiky depozície a vplýva na drsnosť povrchov. DA s nízkou koncentráciou pod 0,5 mg/ml sa použil na funkcionalizáciu nanoštruktúr. Nízka koncentrácia dopamínu účinne znižuje tvorbu PDA častíc samopolymerizáciou a agregáciou medzi časticami. Tieto agregáty nevyhnutne zvyšujú drsnosť PDA povlakov. Vhodnou metódou na minimalizáciu drsnosti povrchu je skrátenie času ponorenia substrátu do Tris pufru na približne 1 až 3 h. Proces krátkeho nanášania sa tak môže opakovať viac krát, čím sa kontroluje hrúbka povrchu. Maximálna hrúbka filmu sa lineárne zvyšuje s koncentráciou dopamínu od 0,1 do 5 mg/ml (t. j. 20 nm pre 0,5 mg/ml, 25 nm pre 1 mg/ml a 25-40 nm pre 2 mg/ml). Naopak, hrúbka PDA sa mení pri vysokých koncentráciách dopamínu (3 a 5 mg/ml). Okrem koncentrácií sa maximálna hrúbka filmu zvyšuje ale len v rozmedzí od 5 do 8,5 pH. (Ryu, Messersmith

and Lee, 2018) DA sa rozpúšťa v Trisovom pufrí tesne pred začiatkom každého depozičného experimentu. Zvyčajne sa tak deje pri intenzívnom miešaní napríklad pomocou ultrazvukového či magnetického miešania. (Ball *et al.*, 2012)

Zdokumentované vo vode rozpustné neorganické oxidanty sú napríklad Jodistan sodný ( $\text{NaIO}_4$ ), Peroxodisíran amónny ( $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ ), Manganistan draselný ( $\text{KMnO}_4$ ), Síran meďnatý ( $\text{CuSO}_4$ ), sú v rámci vytvárania vrstiev široko používané. V prítomnosti ( $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) alebo  $\text{CuSO}_4$  (nad 10 mM koncentrácie oxidantu) vedie tvorba PDA k heterogénnemu povlaku na povrchoch. Avšak PDA povlak generovaný  $\text{NaIO}_4$  (koncentrácia nižšia ako 30 mM) poskytuje homogénne povrchy. Hrúbka PDA filmov v prítomnosti  $\text{NaIO}_4$  bola vyššia po 1 h inkubácie (65 nm), čo je oveľa vyššia hodnota ako hrúbka PDA filmov katalyzovaných  $\text{CuSO}_4$  (43 nm). Pri použití  $\text{CuSO}_4$  PDA povlak obsahuje aj ióny meď ( $\text{Cu}^{2+}$ ) vďaka chelatačným vlastnosťami katecholových častí. Do popredia sa v poslednom období dostáva použitie  $\text{NaIO}_4$ . Optimalizáciou pH, koncentráciou DA a stechiometrického pomeru  $\text{NaIO}_4$  boli získané ultrarýchle a hrubé (nad 50 nm) PDA povlaky vytvorené pri izbovej teplote.

Použitie UV žiarenia v spojení s chemickými derivátmi DA poskytuje ďalšiu úroveň kontroly. Keď sa využijú kyslé podmienky a UV svetlo, možno ľahko kontrolovať začiatok a ukončenie depozičie PDA. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018)

Príklad použitých látok pri metóde jednotného nanášania PDA je použitie makromolekúl ako PVA, kyselina hyalurónová, dextrans a chitosan, ktoré sú schopné silných interakcií s DA. Pre hydrofóbne povrchy alebo porézne membrány sa odporúča pri nanášaní PDA použiť spolurozpúšťadlo voda a etanol, pretože etanol má nízke povrchové napätie. (Lee *et al.*, 2007)

### 4.3 Dvojstupňové metódy a funkcie PDA ako medzivrstvy

Keďže PDA povlaky podporujú reakcie s organickými látkami využíva sa táto vlastnosť pre vytvorenie spojovacích vrstiev. Za oxidačných podmienok reagujú katecholy s tiolmi a amínmi prostredníctvom Michaelovej adície alebo reakcie Schiffovou bázou. Následné ponorenie povrchov pokrytých PDA do roztoku obsahujúceho tiolové alebo amínové skupiny poskytuje vhodnú cestu k depozičii organických vrstiev prostredníctvom adukcie tiolu a amínu katecholov. Aplikovaním sekundárnych reaktantov možno vylepšiť požadované vlastnosti materiálov. Nanášanie polymérnych vrstiev na polydopamínové povlaky sa podarilo použitím polymérov s tiolovou alebo aminovou funkciou v sekundárnom reakčnom kroku, čím vznikli bioodolné a biointeraktívne povrchy. Dvojstupňová metóda modifikácie povrchu zvyšuje použiteľnosť na mnohé typy materiálov zložitého tvaru a pridáva schopnosť viacnásobného konečného využitia. (Lee *et al.*, 2007)

Využitie samopolymerizácie k vytvoreniu povrchovej vrstvy na rozmanitých povrchoch aplikovali vo svojej štúdií Lee a kolektív. Vytvorili PDA povlaky pre špecifické biomolekulárne interakcie vytvorením medzivrstvy glykozaminoglykán kyseliny

hyalurónovej. Interakcia medzi kyselinou hyalurónovou a receptormi hrá dôležitú rolu pri fyziologických a patofyziologických procesoch. Čiastočne tiolovaná kyselina bola naštepená na substráty potiahnuté PDA. Najprv aplikovaný bol spôsob nanášania PDA ponorom kedy dochádza k spontánnej depozícii tenkého polymerového filmu. Maximálny aplikačný čas 24 hodín zaistil vytvorenie povlaku na všetkých substrátoch bez ohľadu na materiál. Na to boli vytvorené alkanethiolové monovrstvy ďalším ponorom. Výsledkom bola čiastočne tiolovaná kyselina hyalurónová vštepená na rôzne substráty za účelom získania bioaktivity. Bunky ktoré pôvodne neadherovali na samotný PDA povlak boli po modifikácii schopné adhézie skrz kombinácie PDA s kyselinou hyalurónovou. Predpokladá sa, že väzba vznikla medzi terminálnymi tiolovými skupinami a katechol/chinón skupinami. (Lee *et al.*, 2007)

Proces polymerizácie povrchovej vrstvy bol vyskúšaný pre úpravu kompozitu pozostávajúceho z uhlíkových/sklenených vlákien a živice s účelom zintenzívnenia družnosti rozhrania oboch materiálov a zvýšenia finálnych vlastností samotného kompozitu. Lee a jeho tím sa snažili zvýšiť povrchovú voľnú energiu mikrovlákien pomocou katecholamínov. Pre svoj pokus uplatnili dva katecholamínové polyméry, PDA a PNE. Látka sa líšia rozdielnou funkčnosťou pričom PNE má o jednu OH skupinu navyše. Predstavujú polymérne formy DA napodobňujúce štruktúru DOPA. Ako technika nanosu bolo zvolené ponáranie do vodných roztokov po dobu 24 hodín čo sa v tomto prípade odhadlo ako ideálny čas nanosu s dosiahnutím maximálnej konštantnej vrstvy. Keďže sa katecholamín oxiduje a samopolymerizuje za slabých zásaditých podmienok, počas procesu poťahovania tak prebieha súčasne polymerizácia. Upravené materiály sa dôkladne vysušili. Podľa dokladovaných snímok boli polymerizované katecholamíny dobre homogénne nanosené na uhlíkových vláknach. Priemer vlákien nebol výrazne ovplyvnený pri PDA ani pri PNE, oba morfológicky vykazovali drsný povrch, čo prispieva k lepšej medzifázovej pevnosti. Samotná morfológia poťahu PNE sa síce vykazovala hladšou ale viac zachovávala pôvodné drážky na povrchu samotného vlákna. Predpokladá sa, že tak bolo vďaka menšiemu množstvu samousporiadaných monomérov. Naproti tomu morfológia poťahu PDA je povrchovo drsnejšia, ale s prekrytím originálnej štruktúry vlákna. Pri sklenenom vlákne ktoré má hladkú povrchovú štruktúru sa PDA povlak prejavil s výraznejším štruktúrovým členením. Oproti tomu PNE s menšou drsnosťou obsahujú alkyhydroxylovú skupinu, ktorá môže pomôcť zvýšiť medzifázovú pevnosť zvýšením voľnej povrchovej energie. Skupina OH spôsobuje vyššiu polárnu povrchovú energiu vlákien. Predpokladá sa vytvorenie vodíkových väzieb pri oboch nanosoch k zlepšeniu súdržnosti oboch materiálov. Napriek vyššej povrchovej energii pochádzajúcej z väčšieho množstva hydroxylových skupín však vykazovali vlákna potiahnuté PNE o niečo nižšiu odolnosť voči zaťaženiu a posunu v ťahu ako vlákna potiahnuté PDA. Čo potvrdzuje doterajší poznatok, že drsnosť povrchu modifikovaných vlákien je jedným z rozhodujúcich faktorov medzifázovej vlastnosti.

Skúmania povrchov lomu pri záťažových skúškach ukázali že modifikované povrchy mali na sebe úlomky živice aj po vzniknutí lomu čo potvrdzuje silnejšiu medzifázovú väzbu medzi vláknami a epoxidovou maticou oproti pôvodným kompozitom bez modifikácie. Katecholamínový povlak tak účinne zabránil a oddialil vznik trhlin na

rozhraní medzi vláknom a matricou. Ich elimináciou dochádza k prenosu záťaže k výplni kompozitu a tým sa zlepšujú jeho finálne vlastnosti. Charakteristické príspevky adhézných katecholamínových polymérov sú v polárnych funkčných skupinách a indolových štruktúrach, čím sa zvyšuje povrchová voľná energia a následne sa zvyšuje aj adhézia. Príspevkom pre tento kompozit sú aj vodíkové funkčné skupiny ktoré môžu ľahko tvoriť vodíkové väzby s mnohými miestami v epoxidovej živici, čo zvyšuje medzifázové vlastnosti kompozitov a reakciou s epoxidovými skupinami napomáhajú zosieťovaniu živice. (Lee, Lee and Byun, 2015)

K zvýšeniu medzifázovej adhézie bola PDA polymerizácia použitá v prípade ukotvenia materiálu živice na vlákenný stĺpik v modelácii zubných preparátov. Trvanlivosť kompozitnej jadrovej náhrady závisí od vytvorenia pevnej väzby medzi živicovým kompozitom a vláknovým stĺpikom. Polymérna matrica je zvyčajne z vysoko zosieťovanej epoxidovej živice. Povrchová úprava je nevyhnutná k dokonalému upevneniu spoja, často sa inak vykonáva silánovým náterom alebo kyselinovým leptaním. Li a kolektív (Li *et al.*, 2013) k tomuto účelu upravili vláknové stĺpiky PDA prostredníctvom oxidačnej polymerizácie DA vo vodnom roztoku. Výsledky ukázali, že ťahové sily potrebné na poškodenie retencie stĺpika sa zvýšili po jeho modifikácii pomocou PDA. Proces nanášania prebiehal podľa overených metód ponorom do roztoku po dobu 14 hodín za stáleho miešania. Povrch pokrytých vlákien obalením stratil svoju pôvodnú morfológiu a zjednotil sa do hladkej formy. Pozorovanie morfológie povrchu vláknových stĺpikov aj jadier po zlyhaní lepidla jasne potvrdilo, že prítomnosť PDA medzivrstvy pôsobila ako spojivo medzi vrstvami. V tomto pokuse tak uplatnili vlastnosť katecholamínov meniť nezmáčavé povrchy zvyšovaním medzifázovej adhézie. PDA vrstva teda pôsobila ako medzivrstva, ktorá má silnú schopnosť spájať vlákenný kolík a jadrovú živicu. (Li *et al.*, 2013)

## 5 VLASTNOSTI MODIFIKOVANÝCH MATERIÁLOV

DA a DOPA sa používajú v mnohých aplikáciách pretože vykazujú silnú adhéziu. Tradičným prevedením ponorom do roztoku skúšali modifikovať nanovláknenné membrány z polyvinylakoholu (PVA) Kim a jeho spolupracovníci. (Kim and Park, 2020). Účelom tohto experimentu bolo vytvorenie absorbentu na odstraňovanie kationových farbív z kontaminovanej vody. Podľa overených zistení o úmernosti času a hrúbky nanášania pre vytvorenie stabilizovanej povrchovej vrstvy boli elektrostaticky zvláknené PVA vlákna vopred stabilizované teplom (ako prevencia proti rozpustnosti a bobtnaniu) modifikované DA a DOPA jednoduchým ponorom do alkalického roztoku. Povlakovanie trvalo približne 12 hodín za ten čas pôsobením oxidačnej polymerizácie sa zmenila farba povrchu na tmavohnedú.

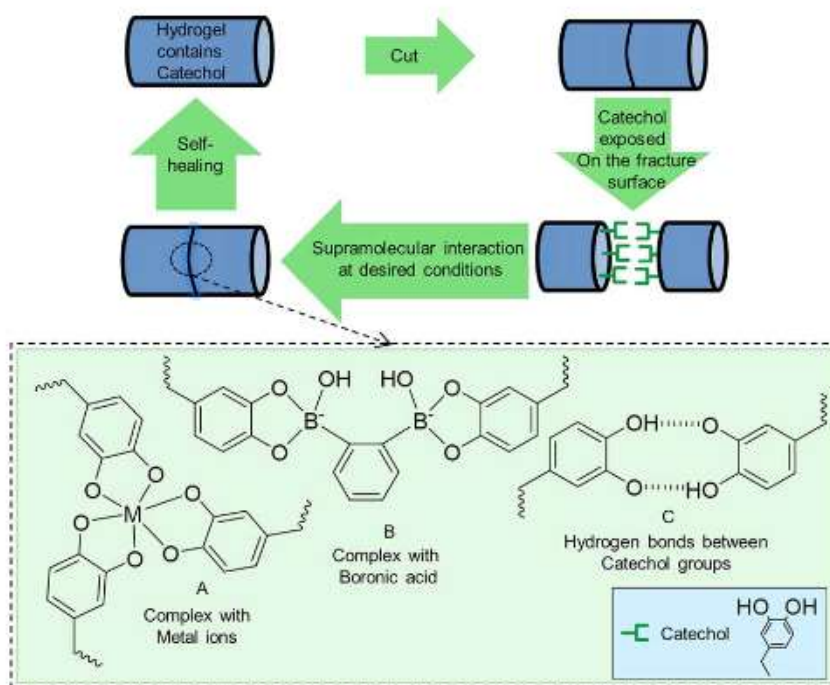
Dôležitým zistením bolo meranie tepelnej degradácie pripravenej nanovláknenej vrstve, kde sa preukázalo, že po nanosení povrchov PDA alebo polyDOPA došlo k výraznému zvýšeniu vrcholnej teploty rozkladu a to približne o 100 °C. Pripisuje sa to schopnosti povlaku viazať radikály a sťažovať tak štiepenie reťazca PVA. Okrem zvýšeniu teplotnej stability materiálu bola potvrdená aj zvýšená zmäčavosť vďaka prístupným hydrofilným skupinám. Pôvodne sledovaná absorpčná výkonnosť voči farbivu vzrástla v dôsledku dipólových interakcií medzi molekulami farbiva a katecholu a tiež skrz  $\pi$  -  $\pi$  interakcie vznikajúce medzi aromatickými kruhmi. Dôležitým faktorom bol aj povrchový náboj absorbentu v čom sa ukázal účinnejší pDOPA povrch obsahujúci karboxylové skupiny. (Kim and Park, 2020)

Povlaková vrstva PDA aplikovaná na kovoch by mohla oddialiť korózný proces. (Sarkari *et al.*, 2022) Rovnako povlaky zabezpečujú ochranu pred rôznymi defektami ako je chemická korózia, biologické znečistenie, prípadne mechanické poškodenie. Poskytnutie väzobných miest funkcionalizuje povrch do ďalších reakcií. (Qiu, Yang and Xu, 2018) Dopamínom asistované kopolymetrické nanášanie je vhodným prístupom na konštrukciu nezašpinitelných povrchov pre zdravotnícke pomôcky ako prevencia patogénnych rastov. (Qiu, Yang and Xu, 2018)

PDA v prítomnosti silných oxidačných činidiel prejavuje zlú toleranciu. Čo je nepriaznivé pre dlhodobú stabilitu náterov. Oxidačná degradácia PDA môže mať pôvod vo výskyte polárnejších častíc v rámci agregátov. (Qiu, Yang and Xu, 2018) Vlastnosti polydopamínového povlaku akou je flexibilita substrátu kombinovaná s rôznymi vlastnosťami spojovacích vrstiev s inými molekulami umožňujú prakticky neobmedzený prístup k funkčným vlastnostiam. A to vďaka kovalentným, koordinačným, nekovalentným väzbám. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018)

Vo všeobecnosti sú hrubé filmy PDA drsné v porovnaní s drsnosťou tenkých filmov a povrchová energia PDA nezávisí od koncentrácie dopamínu. Na získanie hladkých povrchov by sa malo vyhnúť nanášaniu PDA cez noc z dôvodu tvorby mikrorozmerných agregátov PDA. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018)

Výsledkom oxidácie katecholu pri izbovej teplote alebo nižšej ako izbová teplota je chemicky zosieťovaná sieť, pričom následné zahriatie na fyziologickú teplotu vyvolá tepelný hydrofóbny prechod a poskytne mechanizmus mechanického spevnenia. Tento navrhnutý prístup možno ľahko prispôbiť pre iné tepelne citlivé kopolyméry a stratégie sietovania, čo predstavuje typický prístup, ktorý možno použiť na riadenie botnania a zlepšenie mechanických vlastností hydrogélů pre nové medicínske aplikácie. Tento princíp je aplikovateľný pri tuhnutí chirurgických lepidiel. Princíp fungovania samoregeneračných hydrogélů je vyobrazený na obrázku č. 23. (Kaushik *et al.*, 2015)



Obr. č. 23: Schematické znázornenie samoregeneračných hydrogélů obsahujúcich katechol prostredníctvom tvorby komplexu katechol-kovový ión (A), komplexu katechol-boronát (B) a H-väzieb vytvorených medzi katecholovými skupinami (C). (Kord Forooshani and Lee, 2017)

Proteíny a molekuly ako kyselina listová zdajú byť vhodnými kandidátmi použitia pre umožnenie kontroly tvaru a veľkosti nanočastíc. Proces je v závislosti od koncentrácie proteínu alebo kyseliny listovej. Pri riadenej oxidácii a samousporiadaní PDA zohrávajú úlohy určité špecifické aminokyselinové sekvencie. (Kožný eumelanín je hierarchický materiál intenzívne obklopený proteínmi, čo predurčuje smerovanie výskumu). Nanočastice obsahujúce enzým na báze PDA vykazujú enzymatickú aktivitu zabudovaného enzýmu, čo naznačuje, že aspoň niektoré z nich si zachovávajú svoju konformáciu a sú prístupné pre vo vode rozpustné substráty. (El Yakhlifi and Ball, 2020)



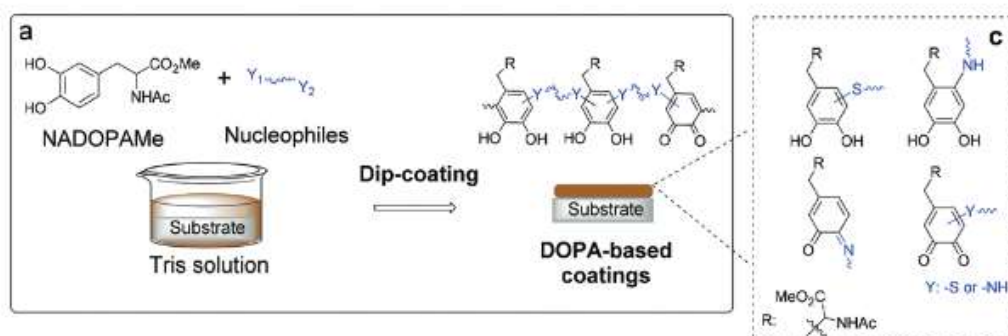
Elektrická vodivosť melanínov a PDA filmov je nízka, závisí od vlhkosti a zvyčajne sa pohybuje v rozmedzí 10-13-10<sup>-5</sup> S cm<sup>-1</sup>. Táto vodivosť je pravdepodobne protónovej povahy, ale predpokladá aj určitý redoxný proces vzhľadom na zloženie melanínov. (Meredith and Sarna, 2006) Súčasná prítomnosť hydrochinónov, semichinónov (radikálových foriem), chinónov a chinónových imínových foriem umožňuje uchovávanie mnohých druhov náboja, a teda umožňuje zaujímavé aplikácie melanínov a PDA filmov ako superkondenzátorov. Koncepcia spočíva v snahe zmiešať oba druhy materiálov, PDA a vodivého polyméru, aby sa našiel dobrý kompromis medzi prijateľnou biokompatibilitou a lepšou elektrickou vodivosťou. To by umožnilo navrhnuť nové flexibilné elektródy na stimuláciu buniek, neurónov a podobne. (Ball, 2017)

## 5.1 Použitie nukleofilných prísad

Citlivosť povrchov PDA voči nukleofilom závisí od rovnováhy katecholu a chinónu, preto generované alkalické pH urýchľuje konjugáčnej reakcie. (Batul et al., 2017) Kopolymerizáciou rôznych katecholamínov a funkčných prísad možno vytvoriť povlaky s prispôbenými chemickými a fyzikálnymi vlastnosťami. Tvorba vysoko reaktívnych chinónových medziproduktov z katecholamínov spúšťa polymerizačnú reakciu. Elektrofilné chinónové medziprodukty sú ľahko prístupné nukleofilom. Jednak na voľné katechol amínové monoméry aj iné dostupné nukleofily. Napríklad nukleofily ako tiol a amín môžu podliehať Michaelovej adičnej reakcii, alebo kondenzačným reakciám jednotlivito s chinónom. Tento princíp sa dá využiť pridávaním nukleofilných aditív za účelom prekonania prekážok pri povlakovaní. (Lyu et al., 2017)

Lyu a kolektív vypracovali novú stratégiu vytvárania povlakov využívajúcu nukleofilné prísady ktoré uľahčujú kopolymerizáciu. Konkrétnou prísadou ktorá bola predstavená je N-Ac-3,4-dihydroxyfenylalanín metylesteru v skratke uvádzaný ako (NADOPAME). Aplikácia povlaku bola testovaná na kremíkovej doštičke, kde za bežných okolností polydopamínová polymerizácia neprebehne. Avšak vhodným výberom nukleofilných prísad možno dosiahnuť povlaky s požadovanými vlastnosťami. Od povahy nukleofilov sa zosieťovanie s o-chinónom s NADOPAME môže udiť prostredníctvom Michaelovej adície a alebo aj súčasne kondenzačnými reakciami tak, aby sa pri stavbe povrchových nanosov premostili katecholové časti. Použitý postup nasledoval štandardný nanos ponorom. NADOPAME bol najprv rozpustený v tris bufferi (10 mM, pH 8,5). Kremíková doštička sa potom ponorila do roztoku, po ktorom nasledovalo pridanie nukleofilov. Ich zloženie a výber sa menil za účelom porovnania. Zahrnuté boli nukleofily sírne obsahujúce tiol, dusíkaté, ďalej s amínovou skupinou, bifunkčné, kyslíkové ako alkohol a karboxylová kyselina. Z pomedzi všetkých aplikácií binukleofily ako ditioly, diaminy a cysteamín vytvárali po reakciách s NADOPAME merateľné povlaky. Z tejto práce vyplynulo, že na zosieťovanie pre výrobu povlakov je potrebný minimálne bifunkčný nukleofil vhodnej dĺžky. Predpokladá sa že to môže mať súvis so sterickými a elektronickými efektmi nukleofilných subjektov. (Lyu et al., 2017) Merania potvrdzujú, že organické alebo anorganické povrchy môžu modifikovať pomocou tohto kopolymerizačného prístupu. Dĺžka a štruktúra reťazca môže vplývať na kovalentné aj

nekovalentné interakcie medzi vytvorenými oligomérmí čím vplýva na tvorbu vrstiev. Skupiny susediace s aminofunkčnými skupinami majú vplyv na proces kopolymerizácie, čo potvrdil rozdiel vo výsledkoch pri použití aditív-cysteamínu, cysteínu a metylester cysteín. Tím rovnako testoval aj redoxný spôsob vytvorenia povlaku. Skúmalo sa redoxne citlivé správanie NADOPAME a Glutatiónom ako reduktantom disulfidovej väzby. Ten sa aplikoval na už vytvorený povlak a sledovala sa kinetika degradácie a miera narušenia integrity filmu. Zlúčeniny možno úspešne inkorporovať do týchto povlakov prostredníctvom kopolymerizačného protokolu a ich uvoľňovanie možno spustiť vhodnými podnetmi. Tieto možnosti podporili snahy vyrobiť stimulačne reagujúce povlaky, ktoré majú svoj potenciál v aplikáciách, ako napríklad uvoľňovacie systémy či na podávanie liečiv. Jedná sa o bioinšpirovaný prístup kopolymerizácie s jednoduchým a pomerne lacným prevedením. (Lyu *et al.*, 2017)



Obr. č. 24: Schematické znázornenie protokolu pre štúdie náterov prostredníctvom kopolymerizácie; (c) niektoré štruktúrne jednotky, ktoré môžu byť prítomné v NADOPA menukleofilných povlakoch. (Lyu *et al.*, 2017)

## 5.2 Vplyv procesných parametrov

Modifikácia materiálov polydopamínovým povlakom je populárna stratégia povrchového inžinierstva využívaná na zmenu mikroprostredia a transformáciu povrchu nanovlákných povrchov smerom ku biokompatibilite. Na skúsenostiach doterajších pokusov existujú viaceré spojovacie črty charakterizujúce proces tvorby polydopamínových vrstiev. Okrem adhézných vlastností hydrofility či biokompatibility, polydopamínové povlaky vynikajú aj jednotným tvarom povrchu a tepelnou stabilitou. Pri depozícii je pomerne široká škála možností prispôbenia vlastností PDA pre rôzne aplikácie. Sfunkčnenie vrstvy nastáva už pri aplikácii dopamínových chemických derivátov pri primárnej depozícii alebo sekundárnou tvorbou vrchnej vrstvy na základnom podklade z PDA. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018) Jeho biologické vlastnosti, vrátane zvýšenej bunkovej proliferácie, aktivity zachytávania voľných radikálov, schopnosti chelatovať kovové ióny a antibakteriálnej schopnosti, pochádzajú z catecholamínových a hydroxylových funkčných skupín. Zatiaľ bolo pozorovaných menej nevýhod polydopamínových povlakov jednou z nich je napríklad slabšia vodivosť.

Hoci aj v tejto oblasti elektrickej vodivosti prebiehajú mnohé pokusy smerom k vylepšeniu. Samousporiadaná vrstva PDA sa dá vytvoriť na rôznych povrchoch, namočením v slabo alkalickom vodnom roztoku PDA. Reakcia prebieha za miernych podmienok bez nutnosti okolitých vstupov. Vo väčšine overené stanovené podmienky sú izbová teplota a doba usádzania maximálne do 24 hodín, pri používanom pH 8,5 s počiatočnou koncentráciou 2 mg/ml. Základný proces nevyžaduje sofistikované spojovacie činidlá. (Sarkari *et al.*, 2022)

Parametre procesu polymerizácie PDA výrazne ovplyvňujú kvalitu a vlastnosti vytvorenej povrchovej vrstvy. Experimentálne faktory, ako je čas povlakovania, teplota, pH a počiatočná koncentrácia DA sa nastavujú tak, aby sa vytvorila vrstva povlaku s požadovanými vlastnosťami. Pre chemické reakcie na báze roztokov je dôležitým parametrom výber rozpúšťadla. Čím viac väzobných funkčných skupín sa nachádza na povrchu vlákna, tým je vyššia pravdepodobnosť nakladania molekúl a anorganických iónov, čo vedie k zlepšeniu prichytenia buniek. (Sarkari *et al.*, 2022)

Aplikovanie polymérnych povlakov zlepšuje mechanické vlastnosti samotných scaffoldov. Táto vlastnosť sa sleduje pri nosičoch pre kostné tkanivá (Wang, 2020) Predovšetkým pri poréznych nanovláknenných nosičoch môže samotný povlak zjednotiť štruktúru spojov a zlepšiť mechanickú stabilitu jednak scaffoldu ale aj vznikajúceho tkaniva. K tomuto zlepšeniu prispieva aj miera zosieťovania. (Ghorbani, 2020)

Čas reakcie povliekania PDA je faktorom s priamym vplyvom na hrúbku vytvorenej vrstvy. Viaceré štúdie naznačujú aj priamy vplyv na drsnosť vrstvy PDA, s rastúcim časom sa drsnosť povrchu vrstvy zvyšuje. (Sarkari *et al.*, 2022) Niektoré skúšky ukazujú že teplota pozitívne zvyšuje hrúbku a drsnosť povlaku a to tým, že urýchľuje proces a skracuje čas polymerizácie bez chemických zmien na kvalite vytvoreného povrchu.

Pokiaľ ide o porovnanie dynamických a statických podmienok, povrchy pokryté PDA pripravené za účasti dynamického miešania v rozsahu 1-8 h vykazovali niektoré lepšie vlastnosti. Konkrétne sa jedná o väčšiu hrúbku a nižší kontaktný uhol v porovnaní s tými, ktoré sa vyrábajú za statických podmienok počas 24 hodín. Rýchlosť polymerizácie sa zvyšuje úmerne s teplotou. Zároveň teplotná úprava povlaku zlepšuje jeho stabilitu pretože ovplyvňuje počet chinónových a amínových skupín na PDA. (Sarkari *et al.*, 2022)

Prídavnými faktormi pre zlepšenie syntézy PDA v alkalickom prostredí je prítomnosť kyslíka. Ten pôsobí ako oxidačné činidlo a zabezpečuje rovnomernosť vznikajúceho povlaku. Hodnota pH priamo ovplyvňuje hrúbku vrstvy PDA. Od toho závisí počiatočná oxidácia DA. S prirastajúcim pH sa zvyšuje rýchlosť polymerizácie. Väčšina výskumov sa orientuje na alkalické prostredie keďže tento rozsah pH vykazuje lepšie výsledky. Experimentálne sa zistilo, že najmenšia pozorovaná hrúbka bola vytvorená pri pH 7,5. Naopak najväčšia pri 8,5 pH.

Pokiaľ ide o vplyv koncentrácie na polymerizáciu, rýchlosť akcie sa zvyšuje s nárastom koncentrácie. K vytvoreniu PDA vrstvy je potrebné aby koncentrácia monoméru DA bola aspoň 2mg/ml. S koncentráciou DA sa hrúbka povlaku zvyšuje, rovnako tak aj drsnosť vrstvy. (Sarkari *et al.*, 2022)

### 5.3 Uplatnenie v tkanivovom inžinierstve

Tkanivové inžinierstvo predstavuje multidisciplinárny vedný odbor, ktorého intenzívny rozvoj začal v 90tych rokoch minulého storočia. Spája biologické chemické, medicínske poznatky s materiálovými výskumami. Hlavným cieľom je oprava poškodeného tkaniva prípadne stavba nového zdravého tkaniva v chýbajúcich miestach. Postupným zdokonaľovaním vedeckých výskumov si svoje uplatnenie postupne nachádza vo všetkých zónach ľudského tela. Najdôležitejšou časťou je vytvoriť také podmienky prostredia a simulácie medzibunkovej hmoty, ktoré súčine podporia správne množenie sa a rast buniek a tým aj tvorbu zdravých nových tkanív. Kľúčovými materiálmi pre aplikovanie v tomto odbore sú biomateriály. Vyrábajú sa z nich lešenia, funkčné nosiče pre dodávanie liečiv či buniek. Používa sa mnoho polymérov syntetických, prírodných aj kovové či keramické materiály. V prípade neorganických materiálov je nutná povrchová funkcionalizácia pre zatriaktivnenie produktu smerom k živým bunkám. Syntetické polyméry ktoré sú biokompatibilné a majú niektoré pozitívne vlastnosti ako je rýchla degradácia, dobrá spracovateľnosť, výhodné mechanické vlastnosti a dostupnosť. Slabá adhéznosť pre biologické bunky sa dopĺňa povrchovou modifikáciou alebo kombináciou s prírodnými polymérmi. (Príkladom syntetických polymérov sú kyselina polymliečna a glykolová, polyuretán, polykaprolaktón, polydimetylsiloxán, polydimetylsiloxán, polyvinylalkohol, polyhydroxyalkanoáty a polyamid.) Alternatíva povlakovania katecholamínmi je preto žiadaný spôsob zvýšenia účinku tvorby tkaniva. (Sarkari *et al.*, 2022) Najčastejšie sledovaným zámerom je účel zvýšenia bunkovej adhézie, lepšej proliferácie a diferenciácie buniek. Keďže sa jedná o biologické povlaky uplatneniu v biomedicínskych aplikáciách sa venuje značná pozornosť.

substrát	spôsob prípravy	funkcionalizácia	testované bunky	cieľ aplikácie	publikácia
<b>kalcium silikát (CS)</b>	3D tlač	PDA-PLA povlak z roztoku	osteoblasty	zvýšenie osteoindukcie a osteointegrácie	(Wang, 2020)
<b>polyanilín (PANI)</b>	elektrospining	PDA-PLA syntéza (kopolymér)	osteoblasty	zvýšenie elektroaktivity	(Massoumi <i>et al.</i> , 2020)
<b>titán (TNTA)</b>	nanočastice (morfológia nanotrúbky)	PDA samopolymerizácia	osteoblasty	zlepšenie tvorby apatitu, bunkovej adhézie a proliferácie	(Agilan, Saranya and Rajendran, 2021)
<b>polylaktid (PLLA)</b>	elektrospining	PDA povlak z roztoku	mezenchymálne kmeňové bunky (hMSC)	zvýšenie diferenciácie, mineralizácie vápnika	(Rim <i>et al.</i> , 2012)

<b>agaróza (APG)</b>	hydrogél	PDA začlenenie do roztoku	MRC-5/RS1	zlepšenie mechanických vlastností, zadržiavanie vody, ukladanie kolagénu a vaskularizácie	(Su <i>et al.</i> , 2011)
<b>alginát a kyselina hyaluronóvová</b>	hydrogél (dvojstupňová syntéza)	PDA začlenenie do roztoku	endotelové bunky (HUVEC)	mechanická pevnosť, elastické vlastnosti, pre aplikáciu 3D tlače	(Guo <i>et al.</i> , 2020)
<b>oxid železnato- železitý (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>)</b>	kompozitné nanočastice (morfológia jadro/obal)	PDA obal nanočastíc	mezenchymálne kmeňové bunky (MSC)	vedenie MSC pomocou magnetického poľa na segmenty miechy, znížené demyelinizáciu miechového nervu	(Liu <i>et al.</i> , 2021)
<b>oxid zinočnatý (ZnO)</b>	nanočastice (morfológia tyčinky)	PDA obal nanočastíc	fibroblasty	aplikácia hemostáza, antibakteriálna aktivita v krvi, hojenie rán	(Tavakoli, Kharaziha and Nemati, 2021)

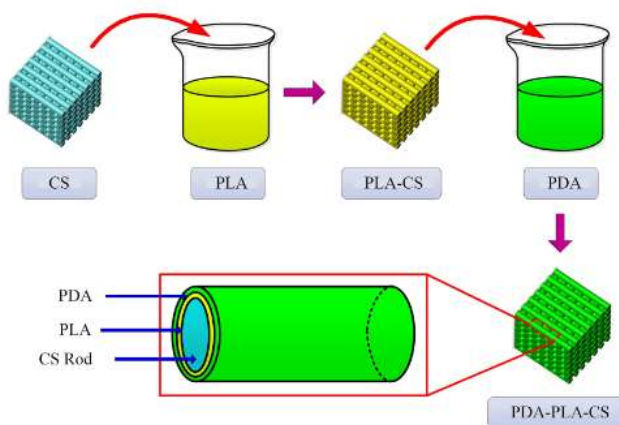
Tabuľka č. 1: Prehľad začlenenia PDA do procesu za účelom modifikácie vlastností

Kolektív Rima spol. aplikovali roztok dopamínu na PLLA vlákna za účelom lepšieho rastu mezenchymových buniek. Pôsobenie roztoku po dobu jednej hodiny viedla k tvorbe polydopamínu len so zanedbateľným vplyvom na drsnosť a hydrofóbnosť vlákien. Povrch vlákien bol homogénne pokrytý, pri zvýšení času pôsobenia roztoku mal za následok vytvárania hrudkovitých štruktúr polydopamínu a tým zdrsnenie povrchu. Výskum preukázal zvýšenie hydrofilnosti povrchu až po viacerých hodinách nanášania. Vrstva vytvorená po dobu jednej hodiny síce nepreukázala veľký posun k hydrofilite avšak mala už preukázateľne pozitívny vplyv na zvýšenie proliferácie buniek oproti pôvodnému stavu. Rovnako sa potvrdila zdravá polygonálna morfológia novo vzniknutých buniek čo predstavuje výhodu z hľadiska zachovania genetických informácií. (Rim *et al.*, 2012)

Mnoho výskumov zahŕňajúcich polyméry funkcionalizované katecholom sa zaoberá vývojom lepidiel vďaka dobre známej adhézii za mokra. Adhézna sila sa zvyšuje s množstvom katecholových skupín ale závisí aj od substrátu a jeho skladbe. Možnou aplikáciou je dodávanie kmeňových buniek na bunkovú terapiu pri vytváraní nových tkanív. Aplikácia katecholových funkcionalizovaných systémov sa skúša v oblasti 3D tlače najčastejšie formou extrúzie. Štruktúry obsahujúce viaceré bioaktívne faktory a bunky možno získať hybridnou tlačou s použitím viacerých hydrogéllov (skrz koaxiálne trysky). Potrebnou vlastnosťou v procese je rýchle zgélovatenie atramentu tesne po tlači, aby sa zachoval tvar a celistvosť štruktúry. Na dosiahnutie rýchleho gélovatenia sa polyméry modifikujú aktívnymi skupinami, ako sú napríklad metakrylátové skupiny na foto-zosieťovanie. Guo a kolektív vyvinuli biomateriál vhodný pre tlač na báze katecholu-kyseliny hyaluronovej a alginátu. Hlavným účelom bolo zvýšenie viskozity a to použitím

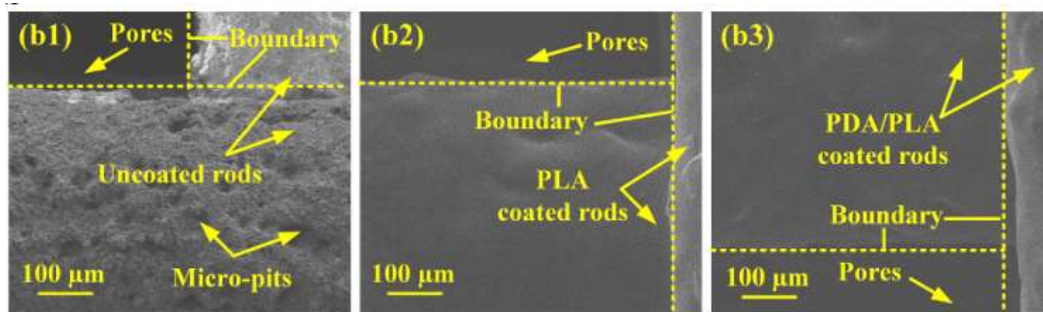
oxidačného činidla a následným druhým sieťovaním pre dosiahnutie vysokej mechanickej pevnosti. (Guo *et al.*, 2020)

Wang prezentoval štúdiu s úmyslom vytvoriť funkčné 3D tlačené lešenie pre liečenie kostných defektov. Pre zvýšenie bioaktivity zvolil sekvenčné ponáranie skeletu vytvorené z kalcia silikátu (CS) do kyseliny polymliečnej a následne do polydopamínu. Touto štúdiou sa snažil vylepšiť medzery oproti pôvodným  $\beta$ -trikalciumfosfátovými lešeniam ktoré zaostávajú v mechanických vlastnostiach. Účinným prístupom na zlepšenie mechanických vlastností biokeramickeho scaffoldu je ich potiahnutie s polymérovými vrstvami. Jednou z očakávaných výhod je aj že dôjde k vyplneniu existujúcich trhlín v biokeramickej štruktúre. Wang zhotovil 3D CS scaffoldy potiahnuté polydopamínom a polyaktidom, pričom najprv vznikol modul skeletu ktorý sa následne ponoril do PLA a ten sa finálne ponoril do PDA roztoku. Dole uvedený obrázok č. 25 referuje jednoduchý postup nánosu. (Wang, 2020)



Obr. č. 25: Schéma postupnej kontinuity nánosu PLA a PDA (Wang, 2020)

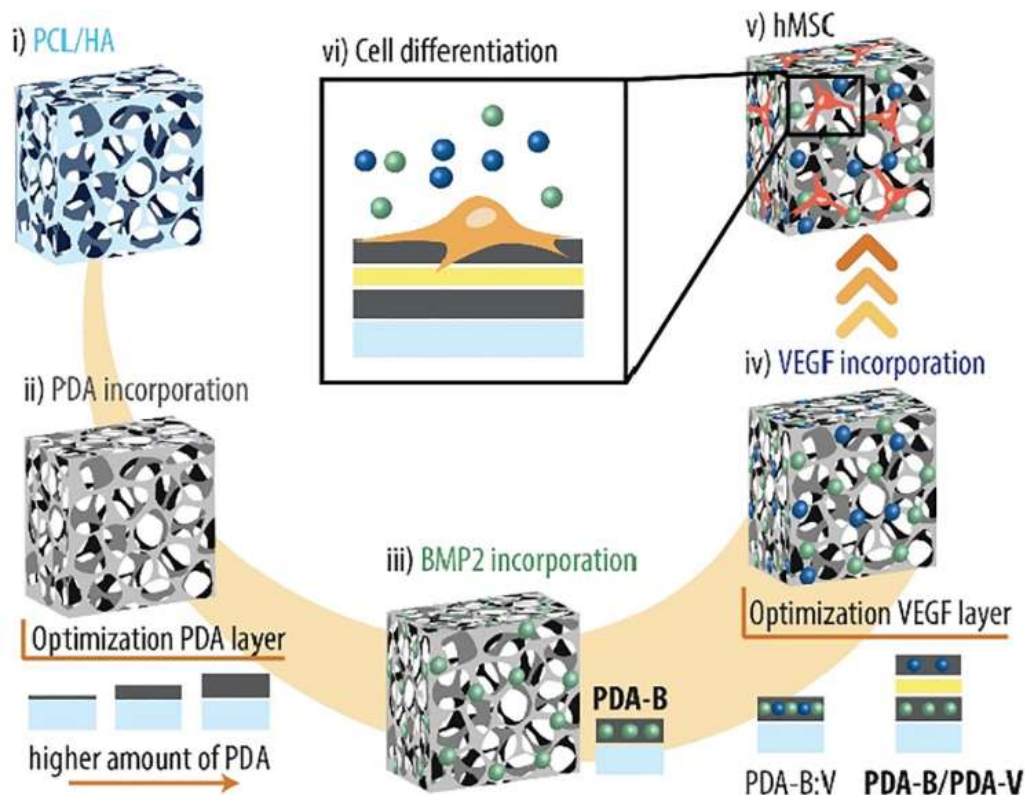
Pri výstupných pozorovaniach bolo zaznamenané, že jednotlivé ponory zmenili morfológiu povrchu. Štruktúra pórov bola zaobalená nánosom povlakov, výsledný povrch tak bol hladký a plochý v porovnaní s pôvodnou CS matricou. Vplyv záverečnej PDA vrstvy stál za nárastom hydrofility, čo potvrdili merania podstatným znížením kontaktného uhla. Celkový výsledný skelet preukázal zvýšenie pevnosti v tlaku. Predpokladá sa, že je to aj následkom utesnenia existujúcich defektov na povrchu, čo bráni ďalšiemu šíreniu trhlín, keďže jednotlivé nánosy spôsobili zjednotenie povrchu vyplnením pórov. Elastická odozva ostala zachovaná ako pri pôvodnej čistej CS konštrukcii. PDA zas podporil výsledný rast a šírenie buniek. Obrázok č. 26 poukazuje na postupnú zmenu morfológie povrchu pridávaním jednotlivých vrstiev. (Wang, 2020)



Obr. č. 26: Záznamy z opisovaných vzoriek s detailom postupného obaľovania povrchu. (Wang, 2020)

Ďalší spôsob uplatnenia aplikácie viacvrstvových dopamínových povlakov demonštroval tím Gooday-Gollardo (Godoy-Gallardo *et al.*, 2020) pri výrobe scaffoldu na báze PCL spolu s nanočasticami hydroxyapatitu (HA). Jedná sa o dvojstupňovú architektúru poréznej matrice. U trojrozmerných biomateriálov sa očakáva, že poskytnú bunkám vhodné prostredie pripomínajúce extracelulárny matrix. Veľký počet lešení pre kostné náhrady je vyvinutých na báze HA, pretože predstavuje hlavnú anorganickú zložku kostí. Samotný však vykazuje nízku mechanickú pevnosť, nedostatočnú flexibilitu, krehkosť. Nevýhodou je aj pomalá rýchlosť degradácie, ktorá bráni procesu kostnej remodelácie. Je to ideálny prípad pre kombináciu s inými polymérmi. V praxi to bývajú syntetické aj prírodné. V tomto výskume bol PCL zvolený ako netoxický biodegradovateľný semikryštalický polymér.

V tejto práci sa použili rozdielne veľkosti pórov s prepojenou štruktúrou pre dôsledný prísun živín a kyslíka ku všetkým bunkám rovnako aj odsun metabolického odpadu. Požadovaná veľkosť pórov bola formovaná napeňovaním CO<sub>2</sub> v dvoch krokoch. Okrem napodobnenia poréznej architektúry medzibunkovej hmoty boli lešenia vybavené aj funkčnými biomolekulami stimulujúcimi správnu tvorbu tkaniva. Jednalo sa o kostný morfogenetický proteín-2 (BMP2) a vaskulárny endotelový rastový faktor (VEGF). Rastové faktory boli začlenené do procesov samopolymerizácie DA na PDA za mierne alkalických podmienok. Úloha PDA v tomto prípade bola v jeho využití ako medziproduktu konjugácie biomolekúl na povrch scaffoldu. Vzorky boli inkubované v roztoku DA cez noc. Ukladanie PDA bolo potvrdené zmenou bielej farby na hnedú farbu, ktorá je charakteristická pre PDA. Potom sa urobil ďalší povlak s pridaním BMP2 faktoru do roztoku DA pri 7,4 pH. Následne s druhou vrstvou PDA bol nanosený VEGF faktor. Pre interakciu vrstiev sa zaviedla spojovacia ditiolová vrstva so skupinami obsahujúcimi tiol. Tie kovalentne reagovali s prvou vrstvou PDA pomocou Michaelovej adície a zároveň vytvorili podmienky umožňujúce depozíciu druhej vrstvy PDA. Ukázalo sa, že osteogénna aktivita scaffoldov obohatených BMP2 aj VEGF je vyššia jednak pri nánosoch samostatných vrstiev ale aj finálna osteoiduktivita na celkovom dvojvrstvovom modeli. (Godoy-Gallardo *et al.*, 2020) Schematické znázornenie postupných nánosov vrstiev je znázornené dole na obrázku č. 27.



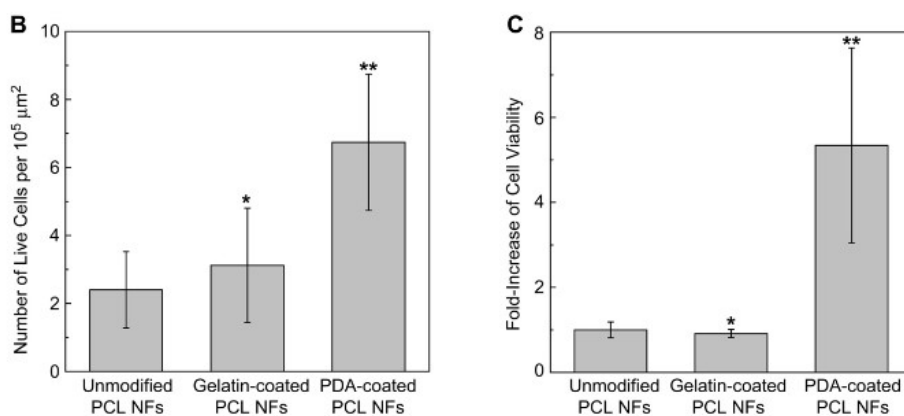
Obr. č. 27: Obrázok znázorňuje postupné nanášanie PDA vrstiev s dvoma rastovými faktormi. Žltá farba znázorňuje spojnicu v podobe tiolu pre efektívne prepojenie dvoch rôznych PDA modifikovaných povlakov.

Katecholové polyméry môžu byť použité na cieľené podávanie liečiv. Napríklad použitý polymérny nosič citlivý na pH, ktorý sa zameriava na bunky a slúži na podávanie protinádorového liečiva bortezomibu (BTZ) do rakovinových buniek. BTZ sa konjuguje s polymérnym nosičom na báze katecholu. Kolektív Su (Su *et al.*, 2011) uplatnili tento proces vo svojom výskume. Použili polymér polyetylén glykol (PEG) ako stavebný prvok pre svoju schopnosť obmedzovať nešpecifické interakcie s proteínmi a bunkami. Katecholová časť bola využitá pre svoju schopnosť viazať a uvoľňovať terapeutiká obsahujúce boráty, ako je BTZ, v závislosti od pH. V kyslom prostredí, ako napríklad v rakovinovom tkanive, BTZ disociuje z katecholových skupín viazaných na polyméry a uvoľňuje voľné liečivo. Uvedený ligand zameraný na rakovinové bunky bol v tomto prípade biotín, ktorý uľahčuje cieľný vstup polymérnych nosičov s liečivom do buniek. Štruktúra katecholu a kyseliny bórovej v BTZ vytvára stabilný, kovalentne viazaný, neaktívny konjugát pri neutrálnom a alkalickom pH, ale táto štruktúra sa v kyslom prostredí disociuje a uvoľňuje voľné aktívne liečivo. Konjugát katecholového polyméru BTZ môže disociovať v reakcii na mierne kyslé mikroprostredie rakovinového tkaniva, aby sa uvoľnilo voľné liečivo. Interakcie medzi BTZ a dopamínom sú teda závislé od pH. Závislosť katecholového komplexu BTZ od pH potvrdila, že polymérne konštrukty



obsahujúce katecholy môžu byť užitočné na uvoľňovanie BTZ spúšťané skrz pH hodnotu prostredia. (Su *et al.*, 2011)

Endotelializácia protetických scaffoldov sa považuje za účinnú stratégiu na zlepšenie účinnosti cievnych štepov s malým priemerom. Ku a Park a uviedli vo svojom výskume vývoj nanovláknového lešenia, ktoré má polymérne jadro a obal napodobňujúci adhezívum lastúrnika pre zlepšenie prichytenia, proliferácie a fenotypové udržiavanie ľudských endotelových buniek. Ako jadro bol použitý PCL. Technológiou elektrospinningu sa pripravili nanovlákná s priemerom cca 700nm. Následne bol materiál povrchovo potiahnutý PDA. Tvorba ad-vrstvy PDA sa analyzovala pomocou viacerých techník vrátane skenovacej elektrónovej mikroskopie (SEM), Ramanovej spektroskopie a merania kontaktného uhla vody. Upravené vlákna sa porovnávali s nemodifikovanými nanovláknami. Ľudské endotelové bunky vykazovali vysoko zvýšenú adhéziu a životaschopnosť. Modifikácia povrchu pomocou PDA sa vykonala jednoduchým ponorením pripravených nanovláknien do roztoku dopamínu (2 mg/ml v 10 mM Tris, pH 8,5) pri teplote 25 °C. Modifikované substráty sa premyli vodou a potom vysušili plynným dusíkom. Hrúbka vrstvy PDA bola približne 40 nm po 16tich hodinách inkubácie. Po tejto aplikácii bolo pozorované značné zníženie kontaktného uhla vody čo potvrdzuje, že povlak zmenil vlastnosť PCL z hydrofóbného na hydrofilný. Počet živých buniek sa zvýšil aj na PCL nanovláknach potiahnutých PDA. Kým na nemodifikovaných nanovláknach prežilo 2,4 a 3,1 buniek na  $10^5 \mu\text{m}^2$ , na modifikovaných toto pozorovanie pre rovnaký priestor činil 6,7 buniek. To potvrdilo, že sa bunky dokážu lepšie prichytiť, rozšíriť a prežiť. Ich životaschopnosť bola vyčíslená skoro na päťnásobné zvýšenie. Detaily týchto meraní zhrňa dole uvedený graf prezentovaný v publikácii uvedený ako obrázok č. 28. (Ku and Park, 2010)



Obr. č. 28: Morfológia buniek, (B) počet živých buniek a (C) násobné zvýšenie životaschopnosti buniek pre HUVEC pestované na nemodifikovaných, želatínou potiahnutých a PDA potiahnutých PCL nanovláknach. (Ku and Park, 2010)

Brodie s kolektívom použili biologické lešenie s bioadhezívnym povlakom inšpirovaný adhéziou mušlí ako chirurgický transplantačný materiál na nápravu poškodenia

achilových šliach. Základný mechanizmus adhézie je identický s mechanizmom katecholov lastúrnikov, ktoré sa oxidujú na chinóny a zosieťujú sa s inými katecholmi v rámci adhezívneho filmu alebo s funkčnými skupinami, ako sú amínové a tiolové biologické povrchy. Na zníženie miery opätovného pretrhnutia sa šľachy a pre urýchlenie rehabilitácie sa niekedy primárna sutúra spevňuje biologickými lešeniami alebo štepmi. Biologické materiály poskytujú extracelulárnu maticu pre rast tkaniva, takže sa dobre začlenia do šľachy. Veľkou nevýhodou techniky je samotná prítomnosť šitia, čo predstavuje negatívum pre celistvosť regenerovaného tkaniva. Preto sa daný tím rozhodol vyvinúť syntetický, degradovateľný bioadhezívny film nanosený na biologické skelety, čím sa vytvoril adhezívny konštrukt, ktorý pevne priľnul k navlhčeným tkanivovým substrátom. Predstavuje to istú formu lepidla na pripevnenie biologických skeletov k achilovým šľachám. Materiály PEG a PCL sa aj v tomto prípade použili v súvislosti s adhezívnymi katecholovými látkami vďaka ich biokompatibilite a biologickej odbúrateľnosti. Adhezívny polymér bol nanosený rozpúšťadlom na dva skelety s cieľom určiť praktickú možnosť použitia konceptu s adhezívnym povlakom pri oprave šliach. Bola preukázaná silná adhézia k mäkkému tkanivu. Aplikované testy detekovali poruchy prevažne v dôsledku kohézneho zlyhania adhezívneho filmu, snímky potvrdili pevné spojenie filmu so skeletom. Aplikovaný povlak preukázal úroveň adhéznej pevnosti, ktorá bola výrazne vyššia ako pri iných medicínskych adhezívnych materiáloch vtedy dostupných na trhu. (Brodie et al., 2011)

Mokrú adhéziu katecholu na tkanivá podporuje zadržiavanie nanočastíc naplnených liečivom na sliznici. S tým súvisí vývoj nosičov liečiv na kontrolované uvoľňovanie. Príkladom sú syntetizované katechol-chitosanové mukoadhezívne hydrogély, kde sa uplatňuje redukčná chémia katecholu. Kim a kolektív publikovali štúdiu s poznatkom, že retencia chitosan-katecholu v gastrointestinálnom trakte sa zlepšila v porovnaní s nemodifikovaným chitosanom, čo je spôsobené tvorbou ireverzibilného katecholom sprostredkovaného zosieťovania s mucínom. Výsledky naznačujú, že katecholová modifikácia mukoadhezívnych polymérov môže viesť k novej generácii mukoadhezívnych polymérov na dodávanie liečiv do sliznice. (Kim *et al.*, 2015)

## 6 AKTUÁLNE SMEROVANIE

Zhrnutím doterajších výskumov možno povedať, že oblasť uplatnenia katecholamínov je stále málo preskúmanou oblasťou. Vychádzajúc z jednoduchých prístupov nanášania vrstiev sa daná metóda zdokonalila a obohatila o mnohé nové formy príprav a aplikácií. Rozsah výskumu aplikovania PDA sa v priebehu tohto storočia rýchlo rozšíril. Modifikácia povrchu, prepájanie so živými bunkami, systémy zberu svetla a získavania energie, biosenzorika, nanomedicína a mnoho ďalších predstavujú odbory kde si katecholamíny budujú svoje pevné miesto.

### 6.1 Smerovanie výskumov

Súčasne sa venuje veľká pozornosť vytváraniu rôznych foriem nanoštrukturovaných formácií. PDA a z neho odvodené nanočastice sa vyznačujú okrem nadmernej priľnavosti aj redoxnou aktivitou, schopnosťou fototermickej konverzie, paramagnetizmom a vodivosťou. Vďaka vynikajúcej biokompatibiliti a hydrofilnosti sú bohato uplatňované tkanivovom inžinierstve. Okrem vytvárania tradičných povlakov časť výskumu smeruje k produkcii cielených samotných PDA nanočastíc a ich zhlukov. PDA-nanočastice majú v podstate rovnaký mechanizmus polymerizácie ako povlaky PDA, s výnimkou toho, že syntéza PDA-nanočastice si vyžaduje prídanie inhibítorov polymérov na kontrolu rýchlosti polymerizácie a morfológie častíc. Syntézu PDA-nanočastíc možno rovnako kontrolovať prispôbením experimentálnych parametrov, ako je koncentrácia dopamínu, pH, čas polymerizácie, teplota a podobne. (Tang *et al.*, 2021)

V budúcich výskumoch sú sa očakáva, že sa pri navrhovaní biomateriálov zohľadní schopnosť fototermickej alebo mikrovlnnej tepelnej konverzie PDA nanočastíc. PDA tiež vykazuje optoelektronické vlastnosti podobné polovodičom závislým od vody. Viac PDA poskytuje univerzálnu platformu pre vhodné substrátov na ladenie ich elektronických vlastností. Nanosenie kompozitov kovov s PDA nanočasticami, podporuje magnetickú odozvu scaffoldov, čo môže byť výhodné napríklad pri diagnostike a liečbe niektorých ochorení. V poslednom desaťročí sa výskumníci viac zamerali na vlastnosti antimikrobiálneho účinku, antioxidačnej a protizápalovej aktivity, ako aj podmienkam vodivosti. (Tang *et al.*, 2021)

Tím Ryu poukazuje že ďalším prínosom skúmania môže priniesť hlbšie pochopenie mechanických vlastností. Ako je schopnosť PD zlepšiť mechanické vlastnosti kompozitov. PDA povlaky v ich súčasnej podobe nefungujú obzvlášť dobre ako mechanické lepidlá alebo v kontexte, ktorý vyžaduje odolnosť voči delaminácii alebo oderu. Platí to najmä pre rovné povrchy a pri aplikácii PDA na materiály s nízkou povrchovou energiou. Chemické zosieťovanie amínov v povlaku ponúka mechanizmus na zvýšenie modulu pružnosti PDA. Lepšie pochopenie chemického zloženia a fyzikálnych vlastností PDA povlakov, by mohlo viesť k vývoju novej generácie PDA materiálov. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018)

Ďalší vývoj v tejto oblasti zahŕňa použitie bezdusíkatých fenolov a polyfenolov ako prekursorov náterov. V prípade povrchových povlakov na báze kovových fenolových sietí a na báze kyseliny trieslovej sa pridaním prechodných kovov na kyselinu trieslovú vytvára povrchové povlaky nezávislé od materiálu kovu vybudovaním koordinačnej siete. Vzhľadom na rýchlu koordinačnú kinetiku kovu a ligandu sa povlak vytvára rýchlo. Aplikácie takýchto vrstiev zahŕňajú napríklad ochranný povlak na pripevnenie buniek, desenzibilizáciu zubov, odstránenie ťažkých kovov či imobilizáciu proteínov. Prekursorov obsahujúce katechol a gallol bez obsahu dusíka, sú schopné tvoriť povlaky bez prítomnosti kovov prostredníctvom autooxidácie spôsobom podobným tvorbe PDA. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018)

K významnému rozšíreniu potenciálnych stavebných blokov bohatých na rastlinné polyfenoly pre spontánnu tvorbu povlakov prispelo pozorovanie spontánnej adsorpcie fenolových zlúčenín z nápojov. Vrstvy odvodené od rastlinných polyfenolov majú veľa spoločné s vytváraním PDA vrstiev. Vznikajú za procesu ktorý sa podobá procesu tvorby PDA, vytvárajú povlaky v nanorozmeroch v kineticky riadenom autonómnom oxidačnom procese. Niektoré z nich majú výhodu že sú bezfarebné. Niektoré biologické vlastnosti rastlinných polyfenolov, ako je antibakteriálna aktivita, antioxidačná aktivita prispievajú náterovým vrstvám. Použitie chemických analógov dopamínu sľubuje ďalšie rozšírenie aplikovateľných vlastností PDA povlakov. Dôležité výzvy výskumu, zahŕňajú lepšie pochopenie mechanizmov tvorby PDA a objasnenie chemickej štruktúry, zvýšenie mechanickej odolnosti PDA a rozšírenie všeobecného prístupu PDA nanášania na chemicky rôznorodejšie stavebné bloky, ako sú bezdusíkaté katecholové a galolové zlúčeniny nachádzajúce sa v rastlinných tkanivách. (Ryu, Messersmith and Lee, 2018)

Schopnosť katecholu vytvárať rôzne silné reverzibilné väzby sa využila pri navrhovaní samoregeneračných hydrogélův. Koordinačná väzba kov-katechol bola využitá na navrhnutie pH-reaktívnych samohojacích sa hydrogélův zmiešaním polymérov a peptidov obsahujúcich katechol s rôznymi iónmi kovov v základnom stave. Hydrogély predstavujú vysoko hydratované trojrozmerné polymérne siete a môžu sa používať v rôznych biomedicínskych aplikáciách vrátane nosičov liekov, aktuátorov a tkanivových lepidiel. Sú však krehké preto nemôžu zastávať nosnú funkciu. Ukázalo sa, že začlenenie anorganických nanočastíc do siete organických polymérov zvyšuje materiállové vlastnosti hydrogélovej siete. Mechanické vlastnosti nanokompozitných hydrogélův obsahujúcich katechol sú vysoko závislé od sily interakcie medzi katecholovou skupinou a enkapsulovanými nanočasticami. Oxidačný stav katecholu výrazne ovplyvňuje jeho medzifázové väzbové vlastnosti k anorganickým povrchom. Adhezívne vlastnosti katecholu ako také klesajú so zvyšujúcim sa pH, pretože sa progresívne autooxiduje za vzniku slabšie adhezívneho chinónu. Ukázalo sa, že moduly šmyku dopamínom modifikovaného nanokompozitného hydrogélu sú nižšie pri pH 9 v porovnaní s hodnotami získanými pri neutrálnom až kyslom pH. Podobne, keď sa dopamín nahradil nitrodopamínom, ktorý sa silnejšie viaže na anorganické substráty, moduly šmyku nanokompozitný hydrogél sa zvýšil. Nitrodopamín bol tiež menej náchylný na autooxidáciu a vykazoval silnejšiu väzbu na nanočastice aj pri zásaditom pH. (Kord Forooshani and Lee, 2017)

Okrem anorganických nanočastíc preukázalo zlepšené mechanické vlastnosti aj zabudovanie mikročastíc na báze želatíny do lepidla na báze PEG funkcionalizovaného DA. Želatína obsahuje nukleofilné bočné reťazce ktoré umožnili chemickú inkorporáciu želatínových mikročastíc do siete PEG prostredníctvom tvorby kovalentnej väzby s oxidovaným katecholom (t. j. chinónom), ktorý sa nachádza na dopamíne. Okrem toho si želatínové mikročastice zachovali štruktúru trojitej špirály kolagénu, čo poskytlo reverzibilnú fyzikálnu interakciu v sieti PEG a zlepšilo vlastnosti viskóznej disipácie mikrokompozitného hydrogél. želatína poskytuje väzbové miesta pre bunkové prichytenie a kapsu pre bunkovú infiltráciu *in vivo*, ktoré sú kritické pre zlepšenie liečebných reakcií. Aktivátory hydrogélů menia svoje tvary a fyzikálne vlastnosti v reakcii na podnety prostredia. Schopnosť katecholu reverzibilne prechádzať medzi komplexmi kovových iónov s rôznou stechiometriou v reakcii na pH bola využitá na vytvorenie aktuátora reagujúceho na pH. Rýchlosť a rozsah, v akom sa hydrogél môže aktivovať, je značne laditeľný rôznymi faktormi vrátane obsahu katecholu a iónov kovov, pH, hrúbky hydrogélů a typu iónov kovov. Konkrétne použitie rôznych iónov kovov umožnilo, aby sa rôzne časti hydrogélů aktivovali rôznou rýchlosťou, čím sa dosiahlo postupné skladanie. (Kord Forooshani and Lee, 2017)

Inteligentné lepidlá môžu reverzibilne prechádzať medzi adhéznym a neadhéznym stavom v reakcii na externe aplikované podnety. Tieto laditeľné adhezívne vlastnosti sa stretli s významným záujmom v rôznych oblastiach materiálovej vedy a inžinierstva. Inteligentné lepidlá, ktoré kombinujú adhézne vlastnosti odolné voči vlhkosti sú založené na chémii DOPA. Schopnosť katecholu prichytiť sa na organické aj anorganické povrchy prostredníctvom jednoduchého prístupu ponorenia poskytuje robustnú a univerzálnu techniku modifikácie povrchu pomocou ukotvenia protihnilobných polymérov na rôzne typy povrchov. Konkrétne lepidlo schopné spájať dva rôznorodé povrchy s veľkým rozdielom vo vlastnostiach ich materiálov bude veľmi žiaduce v mnohých oblastiach (napr. pripevnenie šľachy ku kosti). (Kord Forooshani and Lee, 2017)

Ukázalo sa tiež, že nový polymér inšpirovaný mušľou katecholamínovou sa dá použiť na imobilizáciu DNA prostredníctvom jednoduchej povrchovej modifikácie. Jednokrokovým ponorením substrátu (ušľachtilých kovov, oxidov a polyméru) do roztoku polyméru sa vytvorí substrát, ktorý umožňuje imobilizáciu vlákien DNA. Táto metóda bude užitočná na vývoj mikročipov DNA v rôznych typoch substrátových materiálov s jednoduchým procesom prípravy. Túto stratégiu možno použiť na imobilizáciu rôznych typov iných biomolekúl, ako sú sondy pre DNA, peptidy, aptaméry alebo priame produkty polymerázovej reťazovej reakcie. (Kaushik *et al.*, 2015)

Inšpirovaná skutočnosťou, že eumelanín je vždy obklopený vrstvou proteínov, nedávna štúdia ukázala, že celý fond proteínov z vaječného bielka umožňuje dobre kontrolovateľnú a stabilnú výrobu materiálu podobného eumelanínu z DHI. Molekulárny pôvod tejto kontrolovanej oxidácie a samoskladby však nebol skúmaný, aj keď mnohé purifikované enzýmy, ako napríklad tyrozináza, môžu zohrávať podobnú úlohu počas oxidácie DOPA. Na základe proteínov prítomných v kožných melanocytoch sa ukázalo, že špecifická dvojica aminokyselín v proteínoch, L-lyzí a kyselina L-glutámová,

umožňuje špecifické riadenie oxidačnej samoskladby dopamínu s cieľom získať biokompatibilné polydopamín-proteínové nanočastice. (El Yakhlifi and Ball, 2020)

Polydopamínové filmy sa môžu tiež ukladať na povrch koloidných častíc, čo umožňuje po selektívnom rozpustení koloidného jadra vytvoriť duté kapsuly. (Ball *et al.*, 2012) Nanomateriály podobné eumelanínu ako účinný prostriedok na liečbu rakoviny. Vďaka vysokej selektivitě a minimálnej invazívnosti sa fototermálna terapia stáva účinnou technikou liečby rakoviny. Fototermálne látky a expozícia blízkeho infračerveného laseru umožňujú zamerať sa na špecifické miesta nádoru. Na liečbu rakoviny bolo vyvinuté fototermálne činidlo na báze dopamínmelanínových koloidných nanosfér. Tieto nanočastice preukázali dobrú schopnosť fototermickej konverzie. (El Yakhlifi and Ball, 2020)

Optické vlastnosti nanokoloidov na báze PDA z nich robia veľmi sľubné fototermické materiály v kombinácii s možnosťou ich funkcionalizácie s molekulami zameranými na bunky. Napokon, PDA silne interagujúce s rozpustenými látkami, ako sú aldehydy a kovové katióny, sa môžu použiť ako senzorové platformy s vysokou selektivitou a špecifickosťou. Bioprintovanie tohto biologického atramentu, ktorý ponúka vynikajúcu biokompatibilitu, je tiež v pláne pre budúce aplikácie. Získané nanočastice PDA a iné nanomateriály majú potenciál ako fototermálne činidlá a môžu sa použiť na moduláciu funkčných nanomateriálov reagujúcich na blízke infračervené žiarenie. (El Yakhlifi and Ball, 2020)

Mnohé z vyvinutých materiálov inšpirovaných využitím univerzálnej chémie DOPA sú polymérne konštrukty s katecholmi zabudovanými pozdĺž hlavného reťazca. Na predpoklade, že chemické prostredie katecholu ovplyvňuje jeho reakčnú chémiu sa skúmala sa aj inkorporácia rôznych iónov kovov a Mfp-mimikujúcich častí, ako sú amíny. Novšie návrhy sa snažia diktovať správanie výsledných materiálov substitúciou elektrón-odoberajúcich alebo donujúcich skupín na aromatický kruh aj v aromatickom kruhu. (Andersen, Chen and Birkedal, 2019)

## 6.2 Dopamínová autopolymerizácia v hydrogélloch

DA je malá univerzálna molekula ktorá má svoju biologickú úlohu. Ako už bolo opísané podieľa sa na oxidačnej samopolymerizácii pri vzniku PDA. Predstavuje univerzálny náterový materiál. Fichman a Schneider využili autopolymerizáciu DA na moduláciu viskoelastických mechanických vlastností gélov na báze peptidov. Kombináciou rýchleho zostavovania peptidov a pomalšou autopolymerizáciou DA sa vytváral gél s dvojitou sieťou, kde fibrilárna sieť peptidovej časti slúžila ako lešenie pre nanášanie PDA. Takýto postup umožňuje PDA prestupovať cez sieť gélu, ako aj vytvárať priečne väzby v matici. Menovaný tím preukázal, že spustenie montáže peptidového gelátora bohatého na lyzín v prítomnosti DA môže v niektorých prípadoch zvýšiť mechanickú tuhosť výsledného gélu až 90-násobne, pričom sa zachovávajú gélové vlastnosti pri tenkom zotavení v šmyku. Skúmali sa faktory ako čas polymerizácie, koncentrácia dopamínu a koncentrácia peptidu, aj to ako dané podmienky menia mechanické vlastnosti

výsledného gélu. Hybridné peptid-DA gélové systémy boli charakterizované pomocou reologických meraní, spektroskopie kruhového dichroizmu a transmisnej elektrónovej mikroskopie. Celkovo zhodnotili, že spúšťanie peptidovej gelácie v prítomnosti DA predstavuje jednoduchý, ale účinný prístup k modulácii viskoelastických mechanických vlastností gélov na báze peptidov. (Fichman and Schneider, 2021)

Vytvorila sa dvojitá sieť hydrogél, ktorá by mohla zosieťovať peptidovú časť prostredníctvom reakcie s lyzínovými zvyškami zostaveného peptidu a PDA mal zvýšiť súdržnosť systému, čím by sa zvýšila mechanická tuhosť gélovej matrice. Zostavovanie peptidu sa spúšťa v prítomnosti fyziologického pufru, ktorý zvyšuje pH roztoku a iónovú silu, čím účinne znižuje elektrické interakcie medzi lyzínmi. Peptid sa rýchlo zostavuje a vo fibrilárnom, samo-usporiadanom stave nadobúda amfifilnú konformáciu  $\beta$ -vlásenky. Výsledné fibrily sú monomorfné a vyznačujú sa šírkou približne 3 nm a výškou približne 2 nm. Každá fibrila sa skladá z dvojvrstvovej krížovej  $\beta$ -štruktúry. Výsledná sieť tvorená týmito fibrilami podporuje vznik samonosného gélu. Rýchla tvorba fibrilárnej siete, ktorá preniká celým objemom vzorky, spolu s pomalším procesom samopolymerizácie DA by mala umožniť vytvorenie dobre definovanej fibrilárnej šablóny na báze peptidu pre depozíciu PDA. Tvorba PDA môže potom interpenetrovať peptidovú gélovú sieť, ako aj pôsobiť ako zosieťovacie činidlo tým, že reaguje s niektorými lyzínovými zvyškami, ktoré sú silne zastúpené na povrchu fibril vystavených rozpúšťadlu, čím sa v rámci supramolekulárnej siete zavedú kovalentné zosieťovania. Lyzínové zvyšky sa môžu podieľať na nekovalentných kationovo- $\pi$  interakciách. (Fichman and Schneider, 2021)

Na prípravu hybridného gélu sa použila koncentrácia 7,4 pH. Zmiešanie jednotlivých komponentov sa previedlo vo vode za studena. Po zavedení pufru sa podpora vytvárania fibril zabezpečila miernym zvýšením teploty na hodnotu 37°C. Ako indikácia tvorby PDA slúžila tmavá farbagélovej matrice. Meranie potvrdilo výrazný 66-násobný nárast mechanickej tuhosti gélu oproti pôvodnej nemodifikovanej vzorke. Rozptyl deformácií ukazuje, že hybridný gél je krehkejší, ľahšie začína podľahávať a vykazuje správanie podobné tekutine pri nižších % deformácií. Krehkosť hybridného gélu naznačuje, že do fyzikálnej peptidovej siete boli úspešne inštalované kovalentné priečne väzby. DA neovplyvnil schopnosť samo-usporiadania peptidu, sieť sa usporiadala predtým, ako sa DA vo väčšej miere autopolymerizuje. Vytvorená sieť peptidového gélu tak môže slúžiť ako lešenie na nanášanie PDA, pričom PDA môže fyzicky preniknúť do fibrilárnej siete, ako aj kovalentne zosieťovať vlákna. Kovalentné sieťové väzby sa môžu vytvárať z lyzínových bočných reťazcov reagujúcich s chinónovými intermediátmi, ktoré vznikajú počas dopamínovej autopolymerizácie. Ak by polymerizácia DA na montážnu sieť prebiehala podobnou rýchlosťou, dalo by sa predpokladať, že sieťovanie peptidu bude narušené tvorbou kovalentných väzieb (predčasných krížových väzieb) medzi DA a monomérom peptidom skôr než dôjde k jej zostaveniu. (Fichman and Schneider, 2021)

Tvorba PDA filmu statickou samopolymerizáciou (t. j. bez vonkajšieho miešania) je pomalý proces, ktorý trvá 24 hodín, kým sa vytvorí film s hrúbkou 50 nm. (Lee *et al.*, 2007) Najprv skúmali vplyv času polymerizácie na reologické vlastnosti gélov. Hoci sa uvádzalo, že 3 dni sú optimálne pre samotnú depozíciu PDA filmu, nemusí to nevyhnutne

platiť v prítomnosti peptidovej siete. Dlhšie reakčné časy by mohli zabezpečiť rozsiahlejšiu tvorbu PDA siete a produkciu väčšieho množstva chinónových funkcií dostupných pre zosieťovanie lyzínu. (menšia reakčná doba by mala tieto procesy obmedziť.) Na preskúmanie vplyvu koncentrácie DA na mechanickú tuhosť gélu vykonali reologické štúdie na géloch 3 dni po začatí gélovania v prítomnosti rôznych koncentrácií DA. Podľa zvýšenia koncentrácie narastala mechanická tuhosť. Najviac pri hodnote 40 mM, kde bolo zaznamenaný až 91násobný nárast. Štúdie zotavenia v strižnom režime odhalili lepšie zotavovacie správanie sa gélov pripravených s 20 alebo 40 mM DA, čo zodpovedá približne 86 % zotaveniu. Pozorovania TEM mikrofotografie odhaľujú existenciu dvoch lokálnych morfológií a naznačujú, že v prítomnosti nízkych koncentrácií dopamínu (1 mM) dochádza len k malému ukladaniu PDA.

Kinetika gélovania zaznamenala s pridaním DA drastický nárast po určitom čase (asi 40 min). Zmena kinetického profilu po 40 min môže naznačovať, že v tomto časovom bode sa v systéme vytvorilo dostatočné množstvo PDA na to, aby sa účinne začal sieťovať peptidový gél. Táto skutočnosť dokazuje schopnosť DA meniť viskoelastické vlastnosti gélu tak, aby sa podobali hodnotám mäkkých biologických tkanív. Hybridná peptidovo-PDA gélová matrica ponúka formu lešenia so zlepšenými mechanickými vlastnosťami. V budúcich návrhoch sa môžu viac využiť samotné vlastnosti PDA. Súhrnne by takéto hybridné gély mohli nájsť využitie v pokročilých aplikáciách, ako je napríklad 3D tlač. (Fichman and Schneider, 2021)

### 6.3 Kyselina trieslová

Mnohé výskumy sa venovali PDA v súvislosti s napodobnením na adhezívneho proteínu lastúr. V poslednom čase sa výskumníci zameriavajú na nákladovo efektívnejšie materiály ako alternatívu napodobnenia tohto konceptu chémie inšpirovanej prírodou. Rastlinný polyfenol, ktorý sa skladá z polygallolglukózových molekúl známych ako kyselina trieslová (TA) je tiež schopný pôsobiť ako adhezívne činidlo. Zlepšuje hydrofilnosť povrchu a preukazuje vynikajúce vlastnosti proti znečisteniu. Kyselina trieslová predstavuje alternatívu ku pôvodne využívanú PDA s podobnou štruktúrou. (Senusi *et al.*, 2022)

TA obsahuje katecholové skupiny, ktoré majú schopnosť reagovať ako kotviace skupiny pre širokú škálu substrátov. Kolektív Senusi uskutočnil štúdiu špeciálne s cieľom vyhodnotiť parametre formulácie povlaku, pH tlmivého roztoku a koncentrácie katecholu získaného z TA a tetraetylénpentamínu (TEPA) v náterovom roztoku. Reaktivita polárnych skupín katecholu a amínu sa merala na základe intenzity absorpcie pomocou UV-vis spektroskopie a pozorovania zmien farby v dôsledku oxidačnej reakcie v náterových roztokoch. Meral sa vplyv týchto parametrov povlakovania na kontaktné uhly. (Senusi *et al.*, 2022)

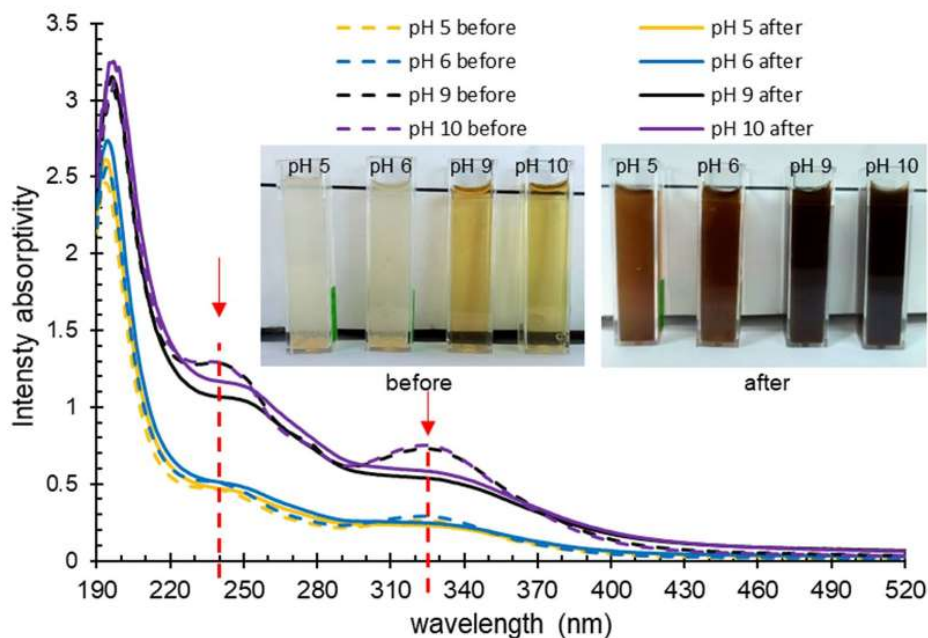
Pripravená náterová hmota z TA a TEPA sa nanášala na mikrofiltračnej PVDF membráne. Na úpravu pH sa v tejto štúdiu použila kyselina chlorovodíková a hydroxid sodný. Experimenty sa vykonávali za neustáleho miešania v otvorenej nádobe pri teplote



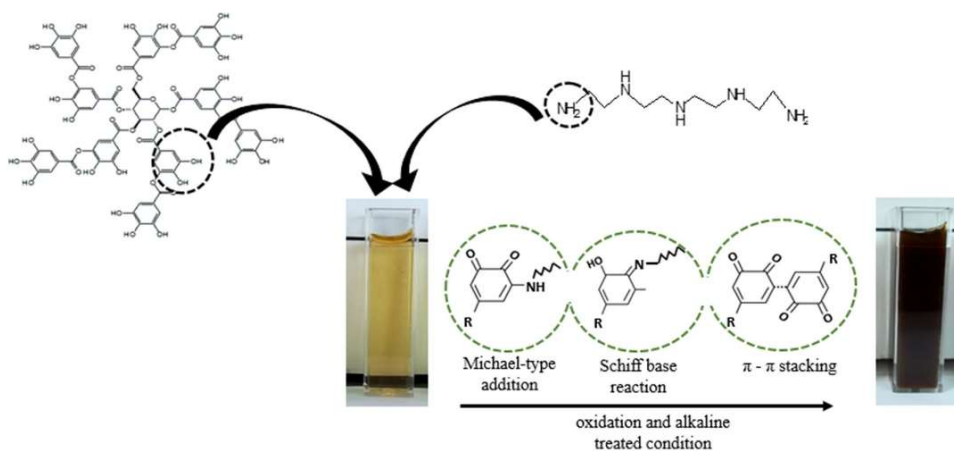
30 °C. (Hydrofóbná membrána PVDF bola predmodifikovaná počas 24 hodín, aby sa póry zvlhčili.) Potom sa ponorila do otvorenej nádoby naplnenej povlakovým roztokom s pomerom 1:6 TA/TEPA na dobu 6 h. Predpoklad bol, že sa tento náterový roztok vytvorí reakciu vodíkovej väzby medzi fenolovou hydroxylovou skupinou a prispeje k adhéznej schopnosti nanesením náteru na povrch membrány. Formovanie chinónových skupín pozorované ľahko pri alkalickom pH naznačuje chelátovanie medzi benzénovými kruhmi a deprotonáciu katecholu v procese polymerizácie. (Senusi *et al.*, 2022)

Modifikácia pri alkalických podmienkach umožňuje rýchlu oxidáciu, pretože zvyšuje jej adhéziu k polymérnym povrchom. Pri vyššom pH sa však zistilo, že vlhkosť sa znižuje v dôsledku zrýchlenia kinetického usadzovania filmu. To naznačuje, že pri vyššom pH sú katecholové skupiny viac deprotonované a oxidované na chinónové skupiny a menej reaktívne ako zo sieťovacích reakcií so substrátom. Proces modifikácie povrchu ovplyvnil vlastnosti povrchového náboja, ktoré sa pripisujú záporne nabitému hydroxylu polyfenolického náterového roztoku. Existencia hydroxylových a aminových skupín na povrchu membrány preto zohráva kľúčové pravidlo na zvýšenie jej hydrofilnosti. (Senusi *et al.*, 2022)

Úloha katecholu v náterovom roztoku sa hodnotila meraním reaktivity polyfenolického roztoku pri izbovej teplote. Potvrdilo sa, že roztok katecholu sa s dlhším časom stáva čoraz nepriehľadnejším. Zmena farby roztoku katecholu súvisí s charakteristikami  $\pi$ - $\pi$  elektrónových prechodov vo fenolových zlúčeninách. Intenzita absorpčných spektier v rozsahu 200 až 400 nm zosilňovala s rastúcim reakčným časom od čistého roztoku katecholu pri 0 h do 8 h. (Tento prechod bol podporený objavením sa píku v rozsahu 250-300 nm s rastúcim časom, čo naznačuje vyšší stupeň  $\pi$ konjugácie a polymerizácie. Teda katechol môže byť pri syntéze náterových roztokov začlenený ako stavebný blokový prekursor s aminmi. Okrem toho tvorba chinónovej skupiny v rozsahu 350 až 390 nm dokázala oxidáciu katecholu v náterovom roztoku. Naznačuje to, že došlo k oxidácii katecholu, ktorá je blízka literárne uvádzaným údajom 390 nm, čo sa pripisuje tvorbe reaktívnej chinónovej skupiny). (Senusi *et al.*, 2022)



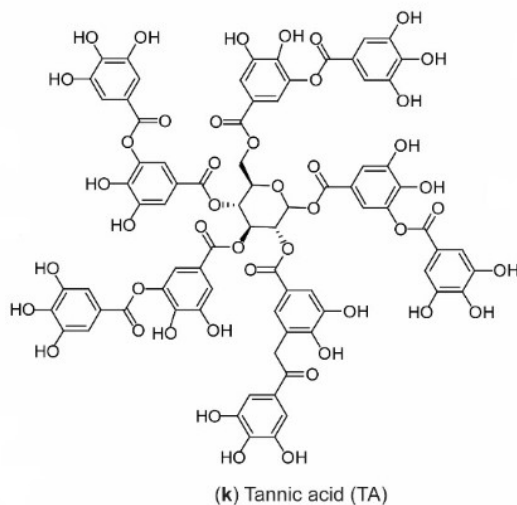
Obr. č. 29: Vplyv pH polyfenolicko-aminového náterového roztoku pri pomere 1:6 TA/TEPA (Senusi *et al.*, 2022)



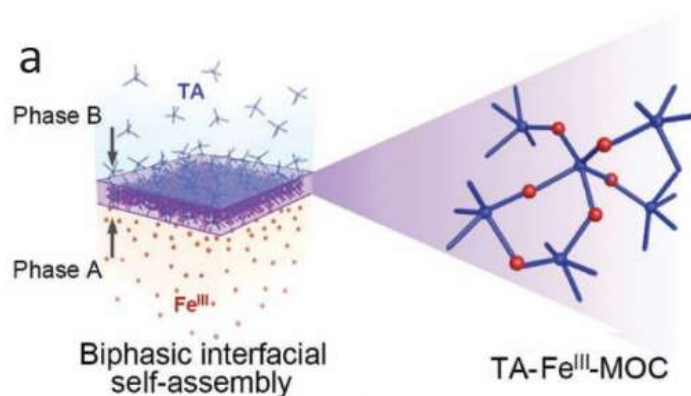
Obr. č. 30: Reakcia katecholu a aminov v oxidačnom a alkalickom stave (Senusi *et al.*, 2022)

Pri vplyve pH a koncentrácie na syntézu náterových roztokov sa TA v alkalických podmienkach oxidoval na chinónovú formu a kovalentné reakcie prebiehali s aminoskupinami v TEPA prostredníctvom Michaelovej adičnej reakcie a reakcie Schiffovej bázy. Nárasty intenzity pík v roztoku povlaku sa pripisujú vzniku štruktúry C=C-C=N v reakcii Schiffovej bázy. Depozičné roztoky sa s reakčným časom menia na hnedé alebo čierne v dôsledku oxidácie polyfenolických látok a reakcií katecholových a aminoskupín. (Senusi *et al.*, 2022)

Sľubné výsledky vykazujú najmä použitie TA koordinovaného s kovmi polypyrogallovej molekuly odvodené z prírodných materiálov. Povlaky preukázali účinnosť v oblasti konzervovania potravín, pri enkapsulácii buniek obalovanými TA-Fe(III) rôznymi stratégiami. Prístup difúzie rozhrania k enkapsulácii variabilných substrátov sa testuje pre rôzne biologicky relevantné aplikácie. Sprejové nanoobalenie vytvorilo povlaky s antimikrobiálnymi vlastnosťami, ktoré sa ukázali ako užitočné pre konzervovanie potravín. Napríklad citoochranná schopnosť hybridov kvasiniek v škrupine pred ultrafialovým (UV)-C žiarením. (Andersen, Chen and Birkedal, 2019)



Obr. č. 31: Polypyrogallová molekuly odvodená z prírodných materiálov (Andersen, Chen and Birkedal, 2019)



Obr. č. 32: Schematické znázornenie medzifázovej supramolekulárnej samousporiadania Fe(III) a kyseliny trieslovej (TA) na rôznych rozhraniach. Ióny Fe(III) sú vopred vložené do fázy (A) a supramolekulárne samousporiadanie je indukované na rozhraní dvoch nemiešateľných fáz pomocou TA v druhej fáze (B). (Andersen, Chen and Birkedal, 2019)

Rastlinným polyfenolom sa venuje veľká pozornosť pri aplikácii povrchových náterov. Syntézu katecholamínových ponorných roztokov pri rôznych podmienkach pH

a s rôznymi koncentraciami TA a TEPA hodnotil tím Senusi. Ich cieľom bolo určiť vzťah medzi chemickou štruktúrou a mechanizmom v oxidačnej reakcii. Reaktivita katecholových a amínových skupín v prípravku sa merala pomocou UV-vis spektroskopie a pozorovaním zmeny farby náterových roztokov. Následne sa nanášali náterové roztoky spearátne katecholu a amínu na hydrofóbnu PVDF membránu. Zaznamenali významné rozdiely v alkalických podmienkach, čo odhaľuje úlohu katecholových skupín pri oxidácii polyfenolických látok. Reakcie chinónu a amínov na tvorbu sieťových väzieb Michaelovou adíciou a reakciou Schiffovej bázy sa pozorovali pri rôznych koncentráciách každej zložky v náterovom roztoku. Okrem toho sa analýzou povrchového zeta potenciálu potvrdil záporný náboj hydrofilnej a pod vodou oleofóbne potiahnutej PVDF membrány. Morfológický povrch modifikovanej membrány je drsnejší čo sa potvrdilo skúmaním pomocou SEM. (Senusi *et al.*, 2022)

## 7 NÁVRHY EXPERIMENTOV

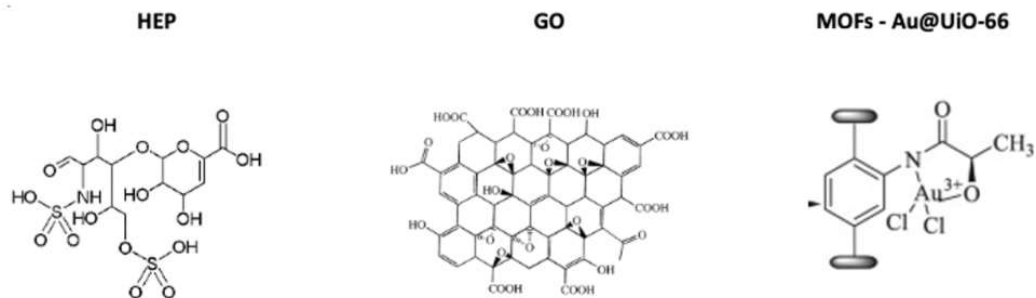
### 7.1 Inkorporačná kapacita katecholamínových povlakov na nanovláknenných štruktúrach

#### *Abstrakt*

Cieľom tohto experimentu bude stanoviť možnosti obohatenia polydopamínového (PDA) a eumelanínového (MEL) povlaku mikro-nanovláknenných polymérnych štruktúr vybranými druhmi organických i anorganických molekúl. Takto funkcionalizované štruktúry by mohli slúžiť ako veľmi účinné sorbenty či katalyzátory v analytickej chémii či biomedicíne. Ako nosič PDA povlaku bude využitá polykaprolaktónová (PCL) vysokoporézna a objemná kompozitná štruktúra zo zmesi mikro a nanovláknien vyrobená kombináciou technológie meltblown a elektrického zvlákňovania. Vlákna takto vyrobeného nosiča budú funkcionalizované vytvorením PDA a MEL poťahu v mierne alkalickom polymeračnom kúpeli za autooxidačnej reakcie, kde budú prítomné aj molekuly vybraných inkorporačných látok. Týmito látkami budú grafén oxid (GO), heparín (HEP) a metalo-organický komplex (MOFs) na báze zlata (Au@UiO-66). Inkorporácia vybraných molekúl do povlaku PDA alebo MEL prebehne priamo z ich polymeračných kúpeľov v jednom kroku počas poťahovania nosiča. Primárnym cieľom bude stanovenie maximálneho množstva inkorporácie každej látky v závislosti od koncentrácie v polymerizačnom roztoku a od jeho pH.

#### *Hypotéza*

Predpoklady sa opierajú o fakt, že vybrané rozdielne látky pre inkorporáciu môžu dosiahnuť pri začlenení do vrstvy PDA alebo MEL na povrchu vlákien špecifických vlastností a tým aj využitia. Heparín je vďaka aromátom veľmi afinný ku katecholamínom a je schopným s nimi tvoriť bioaktívne povrchy, ktoré sú schopné indukovať rast a diferenciáciu buniek, (Zhang *et al.*, 2021) či podporovať sorpciu niektorých druhov liečiv. (Raabová *et al.*, 2021) Grafén oxid v kombinácii s PDA je schopný vytvoriť komplex, ktorý má silnú afinitu k organickým zlúčeninám obsahujúcim síru. (Zhou *et al.*, 2016) Katecholamíny vytvárajú, za nižších hodnôt pH v porovnaní s bežnou hodnotou pH alkalických polymeračných kúpeľov, s vysokou afinitou komplexy s kovmi, (Silverman and Roberto, 2007) kedy napríklad zlato je potom ďalej schopné veľmi špecifických sorpcií-tiol obsahujúcich liečiv za vzniku chelátovej väzby. Podľa predpokladu, bude miera schopnosti inkorporácie jednotlivých látok závislá od pH roztoku a miery jeho nasýtenia danou látkou. Látky boli vybrané tak, aby boli všetky rozpustné vo vodnom prostredí.



Obr. č. 33: Štruktúra vybraných inkorporovaných látok.

### Metodika

Metodika výskumu bude spočívať v stanovení množstva inkorporovanej látky v závislosti od pH polymerizačného kúpeľa a od miery jeho nasýtenia danou látkou. Experiment bude teda prebiehať v dvoch krokoch, kedy v prvom budú pripravené polymeračné kúpele s tromi rôznymi hodnotami pH v alkalickom pásme s konštantnou koncentráciou PDA/MEL aj danej inkorporovanej látky a bude sledovaný iba vplyv daného pH na mieru inkorporácie. V druhom kroku budú naopak polymeračné kúpele pripravené za konštantného pH v troch variáciách s rozdielnou koncentráciou inkorporovanej látky. Tvorba povlakov bude prebiehať vždy za konštantného časového úseku. Vyhodnotenie miery inkorporácie danej látky bude prebiehať vždy pomocou prvkovej analýzy, ktorá preukáže početnosť signifikantného prvku v porovnaní s kontrolnými vzorkami. Pre tieto kvantifikácie bude použitá XPS a EDX analýza.

Konštantami v tomto experimente budú: teplota adičného i polymerizačného kúpeľa, čas inkorporácie.

Premennými v tomto experimente budú: tri rôzne hodnoty pH polymerizačného kúpeľa alebo rozdielna koncentrácia inkorporovanej látky v polymeračnom kúpeli.

### Metódy

Rastrovacia elektrónová mikroskopia (SEM) – hodnotenie morfológie nanovlákennej štruktúry, vytvorených PDA a MEL poťahov, potenciálne zmeny nanovlákennej štruktúry po kontakte s kúpeľmi.

Kvapková metóda merania kontaktného uhla – stanovenie hydrofility vlákenných vrstiev v závislosti od prítomnosti PDA a MEL poťahu a prítomnosti inkorporovaných látok.

Röntgenová difrakcia (XRD) – stanovenie hrúbky PDA poťahov.

Elektrónová spektroskopia (EDX) – kvalitatívne/kvantitatívne stanovenie prítomnosti inkorporovaných látok.

Röntgenová fotoelektronová spektroskopia (XPS/ESCA) – kvantitatívne stanovenie prítomnosti inkorporovaných látok.

## 7.2 Polydopaminové povlaky nanovláknenných štruktúr pre dodávanie liečiv

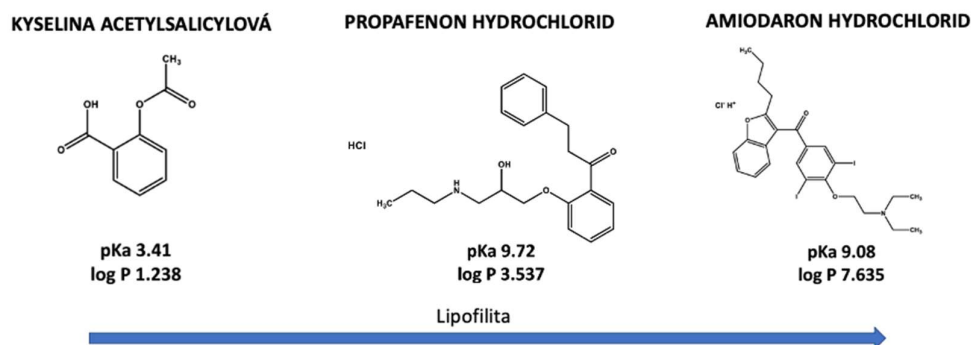
### *Abstrakt*

Cieľom tohto experimentu bude preveriť potenciál využitia polydopaminového (PDA) povlaku na substrát v podobe polymérnej nanovláknenej vrstvy jako systému pre dodávanie liečiv. Nanovláknenná vrstva z biodegradabilného polykaprolaktonu (PCL), čo je biodegradabilný polymér určený k využitiu v medicíne s veľmi vysokou mierou biokompatibility, bude pokrytá najbežnejšie formou katecholamínu v podobe PDA povlaku. Polymérny nanovláknenný substrát vyrobený metódou elektrického zvlákňovania bude potiahnutý PDA povlakom jedнокrokovým spôsobom v kúpeľoch. PDA bude vrstva na povrchu nanovláknien obohatená tromi modelovými liečivami s rozdielnym stupňom lipofily v podobe kyseliny acetylsalicylovej (analgetikum/antiflogistikum), propafenónu (antiaritmikum) a amiodarónu (antiaritmikum). Inkorporácia liečiva prebehne dvoma mechanizmami, kedy prvá bude inkorporácia do povlaku z kúpeľa priamo pri jeho polymerácii, druhá prebehne následnou sorpciou na povrch PDA povlaku zo sekundárnych kúpeľov. Cieľom bude najmä stanovenie množstva liečiv naviazaného na oba metódy na PDA povlak a potom kinetika ich spätného uvoľňovania v jasne definovanom prostredí.

### *Hypotéza*

PDA ako jeden z katecholamínov má schopnosť vytvárať silné spektrum väzobných interakcií prednostne s látkami obsahujúcimi arómáty, akými môžu byť napríklad liečivá. (Faure *et al.*, 2013) Predpokladom je, že tento mechanizmus možno využiť k účinnej inkorporácii liečiv priamo do PDA vrstvy pri jej polymerácii na povrchu PCL nanovlákn vo vodnom kúpeli. S ohľadom na fakt, že účinnosť autooxidačnej reakcie PDA je viazaná na vyššie hodnoty pH, bude tento mechanizmus hrať významnú úlohu v množstve inkorporovaného liečiva vzhľadom k hodnote jeho lipofily.

PDA pri svojej autooxidačnej polymerácii v kúpeli vytvára na vrchoch polyméru klastrujúce agregáty, ktoré vytvárajú členitú štruktúru schopnú viazať rôznymi druhmi nekovalentných interakcií pomerne veľké množstvo nízkomolekulárnych látok. (Lyu *et al.*, 2017) Toho možno využiť k druhému zvolenému spôsobu začlenenia liečiva do PDA vrstvy pomocou sorpcie z vodného kúpeľa.



Obr. č. 34: Štruktúra a vlastnosti vybraných liečiv. (Raabová *et al.*, 2021)

### Metodika

Metodika výskumu bude spočívať predovšetkým v stanovení množstva inkorporovaného liečiva do PDA poťahu z polymeračných kúpeľov v závislosti na jej pH a hodnote lipofily liečiva. Ďalej v stanovení množstva absorbovaného liečiva na povrch PDA poťahu v závislosti na hodnote lipofily liečiva. To bude vykonané pomocou stanovenia úbytku liečiva z polymeračného a sorpčného kúpeľa za využitia spektroskopie a kvapalinovej chromatografie. Potom bude stanovený profil uvoľňovania liečiva, kedy bude vždy konkrétny nosič s inkorporovaným/sorbovaným liečivom umiestňovaný do presne definovaného objemu fosfátového pufru pri teplote 37°C. V týchto výluhoch bude stanovená pomocou spektroskopie a chromatografie koncentrácia liečiva, ktorá bude priradená k danému úseku na časovej evolučnej krivke.

Konštantami v tomto experimente budú: koncentrácia liečiva v polymeračnom a sorpčnom kúpeľi, hodnota pH adičného kúpeľa, teplota adičného i polymeračného kúpeľa, čas inkorporácie/sorpcie/elúcie liečiva.

Premennými v tomto experimente budú: tri rôzne hodnoty pH polymerizačného kúpeľa, rozdielna lipofilita liečiv.

### Metódy

Rastrovacia elektrónová mikroskopia (SEM) – hodnotenie morfológie nanovlákennej štruktúry vytvorených PDA poťahov, potenciálne zmeny nanovlákennej štruktúry po kontakte s kúpeľmi.

Kvapková metóda merania kontaktného uhla – stanovenie hydrofility vlákenných vrstiev v závislosti od prítomnosti PDA poťahu a prítomnosti liečiva v poťahu.

Röntgenová difrakcia (XRD) – stanovenie hrúbky PDA poťahov.



Elektrónová spektroskopia (EDX) – kvalitatívne stanovenie prítomnosti liečiva.

Röntgenová fotoelektrónová spektroskopia (XPS/ESCA) – kvantitatívne stanovenie prítomnosti lieku.

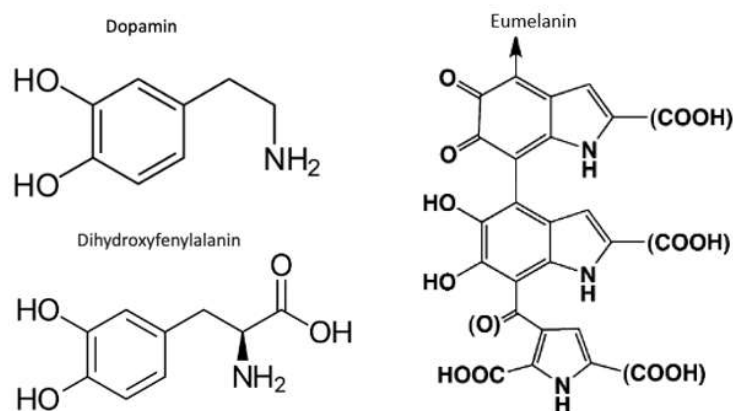
Spektrometria – kvalitatívne/kvantitatívne stanovenie naviazaného lieku z kúpeľov a kvalitatívne/kvantitatívne stanovenie uvoľneného lieku v čase.

Vysokoúčinná kvapalinová chromatografia (HPLC) – kvalitatívne/kvantitatívne stanovenie naviazaného liečiva z kúpeľov a kvalitatívne/kvantitatívne stanovenie uvoľneného liečiva v čase.

### **7.3 Funkcionalizácia polymérnych nanovlákných sorbentov katechalamínmi pre extrakciu v analytickej chémii**

#### *Abstrakt*

Hlavným experimentálnym zámerom bude funkcionalizácia vlákenných kompozitných štruktúr zo zmesi mikro a nanovlákn vybranými katechomalamínmi a overenie ich účinnosti ako sorbentov pre predúpravy vzoriek na tuhej fáze v kvapalinových chromatografiách. Ako nosič bude slúžiť objemná kompozitná štruktúra zo zmesi mikro a nanovlákn pripravená z polymérnej taveniny technológiou Biax – Spunblown. Vlákenné nosiče budú pripravené z polybutyléntereftalátu (PBT) a polyamidu 6 (PA 6) ktoré budú funkcionalizované poťahmi z vybraných katecholamínov v podobe polydopamínu (PDA) eumelanínu (MEL) a dyhydroxyfenylalanínu (DOPA). Tie budú vyvíjané na vláknach nosiča ako tenká vrstva jedнокrokovou metódou v polymerizačnom vodnom kúpeli pufra pri autooxidačnej reakcii. Pri takto pripravených poťahoch bude preukázaná ich prítomnosť na povrchu vlákien a stanovená hrúbka. V ďalšej fáze bude testovaná stabilita povlakov v organických rozpúšťadlách používaných ako mobilná fáza kvapalinových chromatografií, pri rôznych pomeroch pH a teplotách. Hlavným cieľom bude však širším skríningom preukázať extrakčnú účinnosť takto funkcionalizovaných mikro-nanovlákných sorbentov pre vybraných nízkomolekulárnych analytov v podobe polutantov v riečnych vodách, toxínov v potravinách a liečiv v biologických matriciach.



Obr. č. 35: Štruktúra katecholamínov vybraných pre funkcionizáciu sorbentov. (Simon *et al.*, 2009)

### Hypotéza

U PDA bola preukázaná veľmi dobrá využiteľnosť pre funkcionizáciu sorbentov na predúpravu vzoriek na tuhej fáze v kvapalinových chromatografiách, kde preukázali vysokú sorpčnú účinnosť pre skupiny polárnych analytov – betablokátorov, bisfenolov a fenolových kyselín. (Háková *et al.*, 2019) Existuje predpoklad, že podobný priaznivý účinok pre iné druhy analytov môžu mať ďalšie zvolené katecholamíny, ktorými budú DOPA a MEL. Tieto ďalšie katecholamíny disponujú signifikantnou rozdielnosťou predpokladaných interakcií a reaktivity ktoré popisujú predchádzajúce výskumy. (Fischer *et al.*, 2020) (d'Ischia *et al.*, 2014). PBT a PA 6 boli ako polymérny materiál vlákenného nosiča vybrané pre to, že chinóny katecholamínov majú všeobecne veľmi silnú väzbu na amíny, tioly a estery. (Faure *et al.*, 2013) Kombinácia vybraných katecholamínov a polymérov by tak mohla priniesť sorbenty s veľmi odolnými funkčnými poťahmi.

### Metodika

Experimentálna metodika bude spočívať v kvalitatívnej a kvantitatívnej identifikácii jednotlivých katecholamínových poťahov na polymérnych vláknach pomocou prvkových metód. Ďalej overenie ich chemickej stability v roztokoch acetonitrilu a metanolu pri rôznych hodnotách pH a koncentráciách s vodou, realizovaných v dynamickom prostredí aspoň po dobu 24 hodín. Vyhodnotenie stability prebehne pomocou sledovania hmotnostného úbytku, morfológie vlákien a samotného poťahu, materiálovej analýzy poťahu prípadne sledovaním zmien molekulovej hmotnosti jednotlivých komponentov pomocou gélovej permeačnej chromatografie. Samotné stanovenie extrakčných vlastností prebehne za použitia nízkotlakovej – *off-line* – *in-vial* alebo vysokotlakovej *on-line* metódy predúpravu vzoriek na tuhej fáze a následné vyhodnotenie pomocou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie s UV a hmotnostným analyzátorom.

Konštantami v tomto experimente budú: koncentrácia katecholamínov v polymeračnom kúpeli, pH a teplota a čas pôsobenia polymeračných kúpeľov.

Premennými v tomto experimente budú: rôzne kombinácie konkrétneho katecholamínu a polymérneho povrchu, rôzne kombinácie mobilných fáz s rozdielnymi hodnotami pH a teploty pri stabilných testoch. Ďalšou premennou bude závislosť extrakcie na kombinácii poťah-analyt.

### *Metódy*

Rastrovacia elektrónová mikroskopia (SEM) – hodnotenie morfológie nanovlákennej štruktúry, vytvorených poťahov, potenciálne zmeny štruktúry pri hodnotení chemickej stability.

Kvapková metóda merania kontaktného uhla – stanovenie hydrofility vlákenných vrstiev v závislosti od konkrétneho poťahu.

Röntgenová difrakcia (XRD) – stanovenie hrúbky poťahov.

Röntgenová fotoelektrónová spektroskopia (XPS/ESCA) – kvantitatívne stanovenie prítomnosti liečiva.

Vysokoučinná kvapalinová chromatografia (HPLC) – stanovenie extrakčnej účinnosti pre vybrané druhy analytov.

## 8 ZÁVER

Táto diplomová práca je zložená z poznatkov jednotlivých výskumov publikovaných na vedeckých platformách. Prvá časť textu je venovaná opisu možných foriem funkcionalizácie vlákenných povrchov. Zo spomenutých metód funkcionalizácie je v práci najviac kladený dôraz na použitie polydopamínu, ktorý býva využívaný vďaka svojej biokompatibilite a jednoduchému procesu nanášania. Úvodnou staťou do tejto problematiky je rozbor chémie katecholamínov, so zámerom bližšie nahliadnuť do samotnej štruktúry jednotlivých derivantov, ich variability a opísať ich reakčnosť v závislosti od podmienok a substrátových možností. Napriek rozsiahlym štúdiám o samopolymerizácii dopamínu nie je presný mechanizmus procesu detailne opísaný. Text je koncipovaný ako sumarizácia chemických a biologických poznatkov s dôrazom na aplikáciu v experimentoch.

Súčasťou spracovaného textu je stručná kapitola o príprave nanovlákných vrstiev, tieto poznatky sú dôležité pre následný návrh pokusov, keďže k úspešnému využitiu katecholamínov je potrebné vykonať ďalšie štúdie, ktoré povedú ku konkrétnym aplikáciám v príslušných odvetviach.

Výsledná kapitola tejto práce predstavuje tri rôzne návrhy experimentov s využitím prezentovaných znalostí o polydopamínových povlakoch. Prvý návrh uvádza prípravu kompozitnej štruktúry polykaprolaktánu a jej následnej funkcionalizácie polydopamínom a eumelanínom s inkorporačnými látkami heparínu a metalo-organického komplexu. Cieľom toho procesu je pozorovanie schopnosti inkorporácie jednotlivých látok v závislosti od hodnôt pH a koncentrácie roztoku.

Druhý návrh zahŕňa prípravu elektricky zvlákných vrstiev polykaprolaktónu a ich modifikáciu polydopamínom s obohatením liečiv kyseliny acetylsalicylovej, propafenónu, amiodarónu. Modifikácia prebehne v dvoch krokoch najprv priamo pri samopolymerizácii z roztoku a bude podporená následnou sorpciou rovnomenných liečiv zo sekundárneho kúpeľa. Zámerom je stanoviť množstvo absorbovaného liečiva a jeho následný proces uvoľňovania.

Trojicu návrhov experimentov uzatvára spôsob preukázania extrakčnej účinnosti mikro a nanovlákných sorbentov pre uplatnenie v potravinárstve, farmakológii a biomedicíne. Vlákenné nosiče z polybutyléntereftalátu a polyamidu 6 budú funkcionalizované polydopamínom, eumelanínom a DOPA. Takto pripravené vzorky budú vystavené organickým rozpúšťadlám pri rôznych pomeroch pH a rozdielnych teplotách. Zámerom je preukázať účinnosť DOPA a eumelanínu pre overenie ich účinnosti ako sorbentov k predúprave vzoriek na tuhej fáze v kvapalinových chromatografiách.

Vďaka podrobnej štúdie funkcionalizácie nanovlákných vrstiev prostredníctvom katecholamínov, boli zosumarizované doterajšie poznatky o ich vlastnostiach a širokom uplatnení. Navrhnuté experimenty nadväzujú na medializované koncepcie vedeckých výskumov a od ich následného prevedenia sa očakáva prínos.

## 9 BIBLIOGRAFIA

- AGILAN, P., SARANYA, K. and RAJENDRAN, N. (2021) 'Bio-inspired polydopamine incorporated titania nanotube arrays for biomedical applications', *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 629, p. 127489. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.127489>
- ANDERSEN, A., CHEN, Y. and BIRKEDAL, H. (2019) 'Bioinspired Metal–Polyphenol Materials: Self-Healing and Beyond', *Biomimetics*, 4(2), p. 30. Available at: <https://doi.org/10.3390/biomimetics4020030>
- ANUSIYA, G. and JAIGANESH, R. (2022) 'A review on fabrication methods of nanofibers and a special focus on application of cellulose nanofibers', *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 4, p. 100262. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2022.100262>
- BALL, V. *et al.* (2012) 'Kinetics of polydopamine film deposition as a function of pH and dopamine concentration: Insights in the polydopamine deposition mechanism', *Journal of Colloid and Interface Science*, 386(1), pp. 366–372. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.07.030>
- BALL, V. (2017) 'Composite Materials and Films Based on Melanins, Polydopamine, and Other Catecholamine-Based Materials', *Biomimetics*, 2(4), p. 12. Available at: <https://doi.org/10.3390/biomimetics2030012>
- BROADLEY, K.J. (2010) 'The vascular effects of trace amines and amphetamines', *Pharmacology & Therapeutics*, 125(3), pp. 363–375. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2009.11.005>
- BRODIE, M. *et al.* (2011) 'Biomechanical properties of Achilles tendon repair augmented with a bioadhesive-coated scaffold', *Biomedical Materials*, 6(1), p. 015014. Available at: <https://doi.org/10.1088/1748-6041/6/1/015014>
- CHASSEPOt, A. and BALL, V. (2014) 'Human serum albumin and other proteins as templating agents for the synthesis of nanosized dopamine-eumelanin', *Journal of Colloid and Interface Science*, 414, pp. 97–102. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2013.10.002>
- ČORAK, I. *et al.* (2022) 'Sustainable Alkaline Hydrolysis of Polyester Fabric at Low Temperature', *Materials*, 15(4), p. 1530. Available at: <https://doi.org/10.3390/ma15041530>
- El YAKHLIFI, S. and BALL, V. (2020) 'Polydopamine as a stable and functional nanomaterial', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 186, p. 110719. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110719>
- FANG, J. *et al.* (2008) 'Applications of electrospun nanofibers', *Science Bulletin*, 53(15), pp. 2265–2286. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11434-008-0319-0>

- FAURE, E. *et al.* (2013) ‘Catechols as versatile platforms in polymer chemistry’, *Progress in Polymer Science*, 38(1), pp. 236–270. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.06.004>
- FICHMAN, G. and SCHNEIDER, J.P. (2021) ‘Dopamine Self-Polymerization as a Simple and Powerful Tool to Modulate the Viscoelastic Mechanical Properties of Peptide-Based Gels’, *Molecules*, 26(5), p. 1363. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules26051363>
- FISCHER, L. *et al.* (2020) ‘Sequence-defined positioning of amine and amide residues to control catechol driven wet adhesion’, *Chemical Science*, 11(36), pp. 9919–9924. Available at: <https://doi.org/10.1039/D0SC03457F>
- GE, X. *et al.* (2023) ‘Development and applications of electrospun nanofiber-based triboelectric nanogenerators’, *Nano Energy*, 112, p. 108444. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.nanoen.2023.108444>
- GLEISSNER, C., BIERMAIER, C., *et al.* (2022) ‘Complexation-mediated surface modification of polyamide-66 textile to enhance electroless copper deposition’, *Materials Chemistry and Physics*, 288, p. 126383. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2022.126383>
- GLEISSNER, C., LANDSIEDEL, J., *et al.* (2022) ‘Surface Activation of High Performance Polymer Fibers: A Review’, *Polymer Reviews*, 62(4), pp. 757–788. Available at: <https://doi.org/10.1080/15583724.2022.2025601>
- GODOY-GALLARDO, M. *et al.* (2020) ‘Multi-layered polydopamine coatings for the immobilization of growth factors onto highly-interconnected and bimodal PCL/HA-based scaffolds’, *Materials Science and Engineering: C*, 117, p. 111245. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111245>
- GOLDSTEIN, D.S. (2010) ‘Catecholamines 101’, *Clinical Autonomic Research*, 20(6), pp. 331–352. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10286-010-0065-7>
- GUO, Z. *et al.* (2020) ‘Mussel-Inspired Naturally Derived Double-Network Hydrogels and Their Application in 3D Printing: From Soft, Injectable Bioadhesives to Mechanically Strong Hydrogels’, *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 6(3), pp. 1798–1808. Available at: <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.9b01864>
- HÁKOVÁ, M. *et al.* (2019) ‘Polycaprolactone nanofibers functionalized with a dopamine coating for on-line solid phase extraction of bisphenols, betablockers, nonsteroidal drugs, and phenolic acids’, *Microchimica Acta*, 186(11), p. 710. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00604-019-3846-2>
- D’ISCHIA, M. *et al.* (2014) ‘Polydopamine and Eumelanin: From Structure–Property Relationships to a Unified Tailoring Strategy’, *Accounts of Chemical Research*, 47(12), pp. 3541–3550. Available at: <https://doi.org/10.1021/ar500273y>
- KAUSHIK, NAGENDRA *et al.* (2015) ‘Biomedical and Clinical Importance of Mussel-Inspired Polymers and Materials’, *Marine Drugs*, 13(11), pp. 6792–6817. Available at: <https://doi.org/10.3390/md13116792>

- KIM, KYURI *et al.* (2015) ‘Chitosan-catechol: A polymer with long-lasting mucoadhesive properties’, *Biomaterials*, 52, pp. 161–170. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.02.010>
- KIM, S.J. AND PARK, W.H. (2020) ‘Polydopamine- and polyDOPA-coated electrospun poly(vinyl alcohol) nanofibrous membranes for cationic dye removal’, *Polymer Testing*, 89, p. 106627. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106627>
- KORD FOROOSHANI, P. AND LEE, B.P. (2017) ‘Recent approaches in designing bioadhesive materials inspired by mussel adhesive protein’, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 55(1), pp. 9–33. Available at: <https://doi.org/10.1002/pola.28368>
- KU, S.H. AND PARK, C.B. (2010) ‘Human endothelial cell growth on mussel-inspired nanofiber scaffold for vascular tissue engineering’, *Biomaterials*, 31(36), pp. 9431–9437. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.08.071>
- LEE, H. *et al.* (2007) ‘Mussel-Inspired Surface Chemistry for Multifunctional Coatings’, *Science*, 318(5849), pp. 426–430. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1147241>
- LEE, H., SCHERER, N.F. and Messersmith, P.B. (2006) ‘Single-molecule mechanics of mussel adhesion’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(35), pp. 12999–13003. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.0605552103>
- LEE, W., LEE, J.U. and BYUN, J.-H. (2015) ‘Catecholamine polymers as surface modifiers for enhancing interfacial strength of fiber-reinforced composites’, *Composites Science and Technology*, 110, pp. 53–61. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2015.01.021>
- LI, Y. *et al.* (2013) ‘Effect of surface modification of fiber post using dopamine polymerization on interfacial adhesion with core resin’, *Applied Surface Science*, 274, pp. 248–254. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2013.03.027>
- LIU, M. *et al.* (2021) ‘Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@Polydopamine-Labeled MSCs Targeting the Spinal Cord to Treat Neuropathic Pain Under the Guidance of a Magnetic Field’, *International Journal of Nanomedicine*, Volume 16, pp. 3275–3292. Available at: <https://doi.org/10.2147/IJN.S296398>
- LIU, S. *et al.* (2023) ‘Biomimetic natural biomaterials for tissue engineering and regenerative medicine: new biosynthesis methods, recent advances, and emerging applications’, *Military Medical Research*, 10(1), p. 16. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40779-023-00448-w>
- LOVE, J.C. *et al.* (2005) ‘Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology’, *Chemical Reviews*, 105(4), pp. 1103–1170. Available at: <https://doi.org/10.1021/cr0300789>
- LYU, Q. *et al.* (2017) ‘A one step method for the functional and property modification of DOPA based nanocoatings’, *Nanoscale*, 9(34), pp. 12409–12415. Available at: <https://doi.org/10.1039/C7NR05293F>

MASSOUMI, B. *et al.* (2020) 'A novel bio-inspired conductive, biocompatible, and adhesive terpolymer based on polyaniline, polydopamine, and polylactide as scaffolding biomaterial for tissue engineering application', *International Journal of Biological Macromolecules*, 147, pp. 1174–1184. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.086>

MENYO, M.S., HAWKER, C.J. and WAITE, J.H. (2015) 'Rate-Dependent Stiffness and Recovery in Interpenetrating Network Hydrogels through Sacrificial Metal Coordination Bonds', *ACS Macro Letters*, 4(11), pp. 1200–1204. Available at: <https://doi.org/10.1021/acsmacrolett.5b00664>

MEREDITH, P. and SARNA, T. (2006) 'The physical and chemical properties of eumelanin', *Pigment Cell Research*, 19(6), pp. 572–594. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0749.2006.00345.x>

PILLAI, R.R. and THOMAS, V. (2023) 'Plasma Surface Engineering of Natural and Sustainable Polymeric Derivatives and Their Potential Applications', *Polymers*, 15(2), p. 400. Available at: <https://doi.org/10.3390/polym15020400>

QIU, W.-Z., YANG, H.-C. and XU, Z.-K. (2018) 'Dopamine-assisted co-deposition: An emerging and promising strategy for surface modification', *Advances in Colloid and Interface Science*, 256, pp. 111–125. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2018.04.011>

RAABOVÁ, H. *et al.* (2021) 'The role of pKa, log P of analytes, and protein matrix in solid-phase extraction using native and coated nanofibrous and microfibrous polymers prepared via meltblowing and combined meltblowing/electrospinning technologies', *Talanta*, 232, p. 122470. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122470>

RIM, N.G. *et al.* (2012) 'Mussel-inspired surface modification of poly(L-lactide) electrospun fibers for modulation of osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 91, pp. 189–197. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.10.057>

RYU, J.H., MESSERSMITH, P.B. and LEE, H. (2018) 'Polydopamine Surface Chemistry: A Decade of Discovery', *ACS Applied Materials & Interfaces*, 10(9), pp. 7523–7540. Available at: <https://doi.org/10.1021/acsami.7b19865>

S. J. RUSSELL (2007) In Woodhead Publishing Series in Textiles, *Handbook of Nonwovens*. Elsevier, pp. i–iii. Available at: <https://doi.org/10.1533/9781845691998>

SARANYA, G. *et al.* (2020) 'L-DOPA synthesis in *Mucuna pruriens* (L.) DC. is regulated by polyphenol oxidase and not CYP 450/tyrosine hydroxylase: An analysis of metabolic pathway using biochemical and molecular markers', *Phytochemistry*, 178, p. 112467. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112467>

SARKARI, S. *et al.* (2022) 'The effects of process parameters on polydopamine coatings employed in tissue engineering applications', *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, p. 1005413. Available at: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1005413>



- SENUSI, F. *et al.* (2022) ‘Synthesis of catechol-amine coating solution for membrane surface modification’, *Environmental Science and Pollution Research* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20167-4>
- SILVERMAN, H.G. and ROBERTO, F.F. (2007) ‘Understanding Marine Mussel Adhesion’, *Marine Biotechnology*, 9(6), pp. 661–681. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10126-007-9053-x>
- SIMON, J.D. *et al.* (2009) ‘Current challenges in understanding melanogenesis: bridging chemistry, biological control, morphology, and function’, *Pigment Cell & Melanoma Research*, 22(5), pp. 563–579. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1755-148X.2009.00610.x>
- SPRINGSTEEN, G. and WANG, B. (2002) ‘A detailed examination of boronic acid–diol complexation’, *Tetrahedron*, 58(26), pp. 5291–5300. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(02\)00489-1](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(02)00489-1)
- SU, J. *et al.* (2011) ‘Catechol Polymers for pH-Responsive, Targeted Drug Delivery to Cancer Cells’, *Journal of the American Chemical Society*, 133(31), pp. 11850–11853. Available at: <https://doi.org/10.1021/ja203077x>
- SULTAN LIPOL, L. and RAHMAN, Md.M. (2016) ‘Electrospinning and Electrospun Nanofibers’, *World Journal of Nano Science and Engineering*, 06(02), pp. 45–50. Available at: <https://doi.org/10.4236/wjnse.2016.62005>
- TANG, Y. *et al.* (2021) ‘Research Progress on Polydopamine Nanoparticles for Tissue Engineering’, *Frontiers in Chemistry*, 9, p. 727123. Available at: <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.727123>
- TAVAKOLI, S., KHARAZIHA, M. and NEMATI, S. (2021) ‘Polydopamine coated ZnO rod-shaped nanoparticles with noticeable biocompatibility, hemostatic and antibacterial activity’, *Nano-Structures & Nano-Objects*, 25, p. 100639. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2020.100639>
- WANG, G. (2020) ‘Influence of polydopamine/poly(lactic acid) coating on mechanical properties and cell behavior of 3D-printed calcium silicate scaffolds’, *Materials Letters*, 275, p. 128131. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2020.128131>
- WEI, Q. *et al.* (2008) ‘Surface characterization and properties of functionalized nonwoven’, *Journal of Applied Polymer Science*, 107(1), pp. 132–137. Available at: <https://doi.org/10.1002/app.26940>
- XU, H. *et al.* (2011) ‘The preparation and antibacterial effects of dopa-cotton/AgNPs’, *Applied Surface Science*, 257(15), pp. 6799–6803. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2011.02.129>
- XUE, J. *et al.* (2019) ‘Electrospinning and Electrospun Nanofibers: Methods, Materials, and Applications’, *Chemical Reviews*, 119(8), pp. 5298–5415. Available at: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00593>

- YANG, H.-C. *et al.* (2015) ‘Surface engineering of polymer membranes via mussel-inspired chemistry’, *Journal of Membrane Science*, 483, pp. 42–59. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2015.02.027>
- YOO, H.S., KIM, T.G. and PARK, T.G. (2009) ‘Surface-functionalized electrospun nanofibers for tissue engineering and drug delivery’, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61(12), pp. 1033–1042. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.07.007>
- ZHANG, D. *et al.* (2021) ‘Catechol functionalized chitosan/active peptide microsphere hydrogel for skin wound healing’, *International Journal of Biological Macromolecules*, 173, pp. 591–606. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.157>
- ZHOU, L. *et al.* (2016) ‘A polydopamine coating ultralight graphene matrix as a highly effective polysulfide absorbent for high-energy Li S batteries’, *Renewable Energy*, 96, pp. 333–340. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.04.090>
- ZIMMERER, C. *et al.* (2022) ‘Dopamine as a bioinspired adhesion promoter for the metallization of multi-responsive phase change microcapsules’, *Journal of Materials Science*, 57(35), pp. 16755–16775. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10853-022-07658-y>