

## ***Raport științific 2018***

### ***Proiecte complexe de cercetare de frontieră (PCCF)***

privind implementarea proiectului **Cod PN-III-P4-ID-PCCF-2016-0112,**

**Nr.6/2018**

cu titlul:

**Nanomateriale magnetoplasmonice multifuncționale pentru aplicații de tip**

**point of care**

***în perioada iulie 2018 – decembrie 2018***

### ***Faza unică 2018***

**Planul de realizare** a proiectului pe anul 2018 are drept obiectiv

Etapa 1: Proiectarea unor nanohibrizi magnetici funcționali având o structură core-shell (nanoparticule magnetoplasmonice și lipozomi magnetoplasmonici) care prezintă proprietăți magnetice, plasmonice și de recunoaștere îmbunătățite.

- 1.1 Achiziționarea dispozitivelor, chimicalelor și a altor obiecte de laborator incluzând consumabile
- 1.2 Sinteza nanoparticulelor magnetice (MNPs)
- 1.3 Analiza fizico-chimică a nanoparticulelor (MNPs)
- 1.4 Promovarea vizibilității proiectului
- 1.5 Instrucțiuni pentru folosirea în siguranță a instrumentației și a chimicalelor
- 1.6 Diseminare și alte activități privind vizibilitatea
- 1.7 Achiziții servicii audit
- 1.8 Raportare

## **Modul de realizare a obiectivelor**

1.1 S-au achiziționat dispozitive, chimicale, obiecte de laborator și consumabile, așa cum rezultă din facturile introduse în baza de date EVOC. Achiziționările s-au făcut în limita sumelor prevăzute în deviz.

### **1.2 Sinteza nanoparticulelor magnetice (MNPs)**

În cadrul proiectului au fost sintetizate nanoparticule pe bază de oxizi fier și anume

- magnetite și maghemite
- ferite de tip spinelic,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$
- perovskite

Modul de obținere al acestora al acestora sunt descrise în raportul de fază

**1.3 S-au studiat proprietățile fizice ale nanoparticulelor:** morfologia, structura cristalină precum și proprietățile magnetice ale acestora. S-au selectat metodele cele mai adecvate care să conducă la obținerea de nanoparticule pentru realizarea de markeri.

Obiectivele menționate mai sus au fost extinse pentru a analiza aspecte de bază ale interacțiunii moleculă-nanoparticulă. Aceste aspecte se referă la:

**2. Analiza interacțiunii moleculă-nanoparticulă** în vederea amplificării semnalului Raman, de mare interes în procesele de detecție

**3. Analiza mecanismelor moleculare** responsabile de creșterea tumorală și metastazare, corelată cu eliberarea microARN (miARN) prin exozoni, identificarea miARN implicate în dezvoltarea nișei metastatice, izolarea exozonilor și detecția tumorilor primare.

În raportul de activitate pe anul 2018, sunt descrise în detaliu studiile efectuate.

Rezultatele cercetărilor au fost incluse în 5 lucrări publicate în reviste cotate internațional, precum și cinci lucrări prezentate la conferințe internaționale, care vor apărea în reviste de specialitate în anul 2019.

Rezultatele detaliate sunt prezentate în Raportul de Fază pe anul 2018.

#### 1.4 Promovarea vizibilității proiectului

Pentru a asigura vizibilitatea proiectului s-au realizat următoarele obiective.

- s-a realizat site-ul proiectului <http://nanotex.granturi.ubbcluj.ro/#> în care se vor introduce modul de realizare a diferitelor obiective, lucrările științifice publicate în cadrul proiectului, prezentate la conferințe internaționale sau naționale.
- s-au realizat lucrări științifice publicate în reviste bine cotate ISI sau prezentate la conferințe internaționale în care s-a menționat suportul financiar a proiectului
- lucrările publicate în tematica proiectului au atras atenția specialiștilor din domeniu, primind doar în acest an peste 20 de invitații de a prezenta lucrări invitate sau cu o tematică dată la conferințe internaționale.

#### 1.5 Instructaje pentru folosirea în siguranță a instrumentației și a chimicalelor.

Instructajele s-au făcut în conformitate cu legislația existentă. S-au întocmit Fișe de instructaj pentru protecția muncii la toate persoanele implicate în proiect.

#### 1.6 Diseminare și alte obiective privind vizibilitatea

Diseminarea rezultatelor și vizibilitatea activităților de cercetare s-a făcut prin:

- publicarea rezultatelor științifice în reviste de largă circulație internațională, cu menționarea surselor de finanțare.
- prezentarea de lucrări la conferințe internaționale
- prezentarea rezultatelor științifice pe site-ul proiectului

#### 1.7 Achiziții servicii audit.

Au fost achiziționate serviciile de audit prin Universitatea Babeș-Bolyai.

#### 1.8 Raportare

Iulie 2018-Decembrie 2018

## *Raport de fază*

*Iulie 2018-Decembrie 2018*

*Obiectivele științifice ale proiectului, pentru anul 2018, prevăd:*

### **1.2 Sinteza nanoparticulelor magnetice (MNPs)**

### **1.3 Analiza fizico-chimică a nanoparticulelor (MNPs)**

În cadrul proiectului au fost sintetizate nanoparticulele pe bază de oxizi de fier și anume: (1) magnetită și maghemită, (2) ferite spinelice  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  precum și (3) perovskite. Pentru fiecare din aceste sisteme vom prezenta concomitent metodele de preparare precum și proprietățile fizice ale acestora (cumulând obiectivele cuprinse la pozițiile 1.2 și respectiv 1.3). Astfel putem avea o imagine mai clară în selecționarea materialelor cu proprietățile cele mai adecvate pentru realizarea tematicii proiectului, corelate cu modul de preparare.

În plus au fost studiate aspecte legate de detectarea tumorilor canceroase respectiv mărirea capacității de detecție. Acestea au în vedere:

**2. Analiza interacțiunii moleculă-nanoparticulă** în vederea amplificării semnalului Raman, pentru îmbunătățirea sistemului de detecție.

**3. Mecanismele moleculare responsabile de creșterea tumorală și metastazare,** corelate cu eliberarea miARM prin exozoni, identificarea miARN implicați în dezvoltarea nișei metastatice, izolarea exozonilor și detecția tumorilor primare.

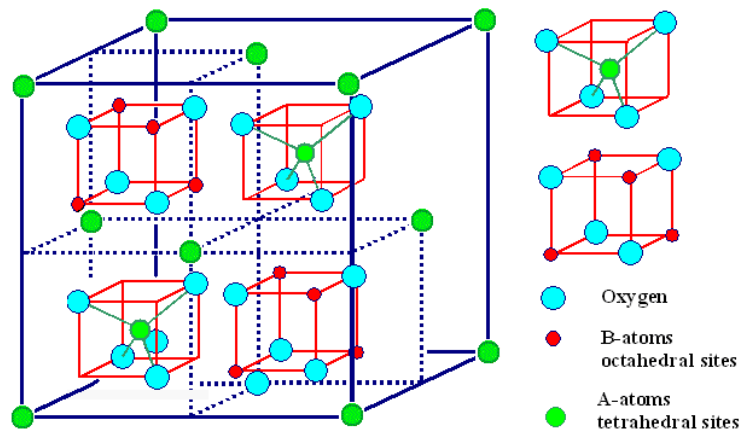
În anul 2018, în cadrul proiectului au fost publicate 5 lucrări științifice în reviste de largă circulație internațională (ISI) cu factor de impact mare, alte 5 prezentate la conferințe internaționale, care urmează să apară în reviste de specialitate în anul 2019.

## 1.2.1. Sinteza nanoparticulelor magnetice și analiza fizico-chimică a nanoparticulelor.

### 1.2.1 și 1.3.1 Nanoparticule de magnetică și maghemită

#### 1.2.1a, 1.3.1a Introducere

Pentru realizarea obiectivelor contractului s-au preparat nanoparticule de magnetită și maghemită. Aceste materiale cristalizează într-o structură de tip spinel având grupul spațial  $Fd\bar{3}m$ . În structura de tip spinel, atomii de fier sunt distribuiți în două tipuri de poziții: octaedrice (B) și respectiv tetraedrice (A) – Fig. 1. Magnetita are formula structurală  $(Fe^{3+})[Fe^{3+}Fe^{2+}][O^{2-}]_4$  în timp ce maghemita are vacante în pozițiile octaedrice  $(Fe^{3+})[Fe^{3+}_{5/6}\square_{1/6}]O_3^{2-}$ . Prin paranteze [] și () s-au notat atomii în poziții octaedrice și respectiv tetraedrice. Spre deosebire de maghemită, magnetita conține ioni de fier bivalenți. Ambii oxizi de fier se pot transforma unul în altul. Ca urmare a unei oxidări lente a magnetitei, acesta se transformă în maghemită, care la rândul ei, încălzită în vid, se transformă în magnetită. Maghemita, în stare pură, este mai puțin stabilă, chiar și la temperatura mediului ambiant.



**Fig.1.1.** Structura cristalină a magnetitei (maghemită)

Ambii compuși au structuri cristaline cubice cu parametri de rețea  $a = 8,396 \text{ \AA}$  pentru magnetită și  $8,3474 \text{ \AA}$  în cazul maghemitei, la temperatura mediului ambiant. Valori ușor diferite de cele de mai sus au fost obținute și publicate în diferite studii, în particular în cazul maghemitei. Aceste diferențe par legate de gradul de nestoichiometrie a compusului, care poate

varia. In cazul unei probe nanocristaline, având dimensiunea  $d_m \cong 106(2) \text{ \AA}$ , s-a determinat un parametru de rețea la  $T = 300 \text{ K}$ ,  $d = 8,380(1) \text{ \AA}$  [1].

Magnetita, în domeniul de temperaturi  $110 \text{ K} \leq T \leq 120 \text{ K}$ , își modifică structura cristalină din cubică în cea cu simetrie ortorombică. La temperaturi  $T < 100 \text{ K}$ , momentele magnetice ale ionilor de fier sunt aliniat paralel cu axa [001]. Diagonalele fețelor cubului ortogonale la axa **c**, devin axele **a** și respectiv **b**. ale structurii ortorombice. In această structură, ionii ferici în poziții octaedrice sunt aranjați în rânduri paralele la axa **a** iar ionii ferici din poziții tetraedrice în rânduri paralele la axa **b** [2]. Constanta de rețea **a** este mai mare decât **b**. Momentele magnetice ale ionilor de fier în cele două poziții sunt dispuse paralel și respectiv antiparalel la axa **c**.

Atât magnetita precum și maghemita sunt ordonate ferimagnetic; momentele magnetice în pozițiile A și respectiv B fiind dispuse antiparalel. Momentele magnetice ale fierului în poziții octaedrice și tetraedrice în  $Fe_3O_4$  sunt  $3,75(6) \mu_B/\text{atom}$  și respectiv  $4,56 \mu_B/\text{atom}$ , la temperatura mediului ambiant [3]. Valori ușor diferite ale momentelor magnetice au fost deasemenea determinate și anume  $3,60(6) \mu_B$  și respectiv  $4,05(4) \mu_B$  pentru atomii de fier situate în poziții tetraedrice și respectiv octaedrice [4]. Prin difracție de neutroni au fost determinate și momentele magnetice ale atomilor de fier în maghemită și anume  $4,33 \mu_B$  în pozițiile A și  $3,78 \mu_B$  în pozițiile B. Datele obținute, la temperatura mediului ambiant, evidențiază faptul că gradul de ocupare a poziției tetrahedrale (A) este de 0,81 [5]. La  $T = 4 \text{ K}$ , momentele magnetice ale fierului, în pozițiile A și B sunt identice și anume  $4,6 \mu_B/\text{atom}$  – Fig. 1.1.

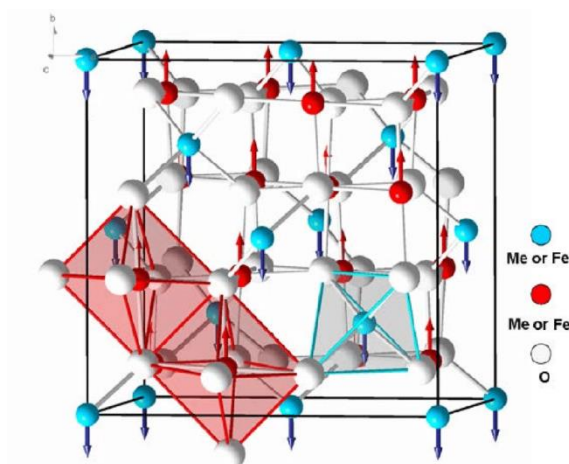
Studiul prin difracție de neutroni a maghemitei, având dimensiuni ale particulelor de  $106(2) \text{ \AA}$ , evidențiază deasemenea o ordonare de tip ferimagnetic [1]. La temperatura  $T = 50 \text{ K}$ , momentele magnetice ale fierului determinate în pozițiile A și B, sunt de  $3,9(1) \mu_B$  și respectiv  $1,6(1) \mu_B$ . Aceste valori sunt mai mici decât cele determinate în probe masive, unde s-au obținut valori  $M_{Fe}(A) = 4,18 \mu_B$  și respectiv  $M_{Fe}(B) = 4,18 \mu_B$ .

Temperaturile Curie a feritei  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  este  $T_c = 773 - 823$  K. Temperatura Curie a maghemitei poate fi doar estimată, deoarece la 573 K se transformă în hematita [6]. Acesta a fost considerat a fi în jur de  $T_c = 948$  K.

Faptul că momentele magnetice ale fierului, aparent sunt mai mici în materiale nanostructurate, poate fi explicat prin dezordonarea momentelor la suprafața particulelor. Efectul de dezordine în particule nanocristaline de  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ , a fost evidențiat prin efect Mössbauer la nucleul  $^{57}\text{Fe}$  [7-9]. S-au observat diferite tipuri de dezordine structurală în nanoparticulele de  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$  având dimensiunea de  $3,5 \pm 0,6$  nm. Dezordinea structurală conduce la diferite tipuri de frustrări de spin ce au loc nu doar la suprafață, dar și în interiorul particulelor. Tipurile de dezordine depind de modul de preparare a probelor și influențează semnificativ proprietățile magnetice. Astfel câmpul magnetic hiperfin, la nucleul  $^{57}\text{Fe}$ , scade de la 52 T la 48 T în timp ce câmpul coercitiv, crește în funcție de gradul de dezordine, de la 700 Oe la 3000 Oe comparativ cu probele masive.

Magnetizările probelor de maghemită, așa cum s-a menționat anterior, depind de dimensiunile particulelor. Spre exemplu, redăm mai jos datele raportate de Bee și colab. [10]. Dacă ne referim la magnetizările pe volumul unitate, acestea diferă relativ puțin, între ele în domeniul de diametre  $4,7 \leq d \leq 8,2$  nm, în schimb la dimensiuni mai mici magnetizările scad puternic .

d (nm)	8,2	7,9	6,6	4,7	2,2	2,2
M (s)	2909	3130	2817	1796	979	529



**Fig. 1.2.** Structura magnetică a magnetitei (maghemită)

Proprietățile magnetice ale nanoparticulelor de  $Fe_3O_4$  monodisperse pot fi influențate de distanțele dintre acestea [11]. O creștere a magnetizării remanente, precum și a câmpului coercitiv au fost evidențiate, pe măsura ce distanța dintre particule crește. Astfel particulele de  $Fe_3O_4$  cu  $d = 8$  nm, la temperatura mediului ambiant, au magnetizări între 57,38 și 64,41 uem/g, câmpul coercitiv variind între 160,1 și 241,8 Oe în funcție de gradul de separație.

Particulele de  $Fe_3O_4$  cu dimensiunile de 10, 15 sau 20 nm au magnetizările de 42,31, 44,73 și respectiv 49,23 uem/g, evidențiind o creștere a magnetizării pe măsură de diametrele medii cresc.

Metodele de preparare folosite, influențează puternic proprietățile magnetice, atât cu referire la dimensiunile particulelor precum și la efecte de dezordine.

### **1.2.1b, 1.31b Obținerea de nanoparticule de magnetită și maghemită, prin descompunere termică în mediu hidrofob**

Toate sintezele realizate au implicat utilizarea dibenzileterului (DBE) ca solvent (hidrofob) și mediu de reacție și a acetilacetonatului de fier (III) –  $Fe(acac)_3$  – ca precursor magnetic. Totodată, în cadrul tuturor sintezelor s-a utilizat un amestec de acid oleic și oleilamină (în diverse rapoarte molare de combinare) în calitate de agenți de capping, cu scopul de a asigura o stabilitate coloidală adecvată a NPMag în mediu hidrofob (acidul oleic, respectiv oleilamina, se adsorb pe nanoparticulele obținute, conferindu-le un caracter hidrofob; totodată,



lungimea relativ mare a lanțurilor hidrocarbonate (18C) aparținând acestor molecule conferă nanoparticulelor și o stabilitate sterică adecvată).

- **Metode de sinteză a NPMag prin descompunere termică**

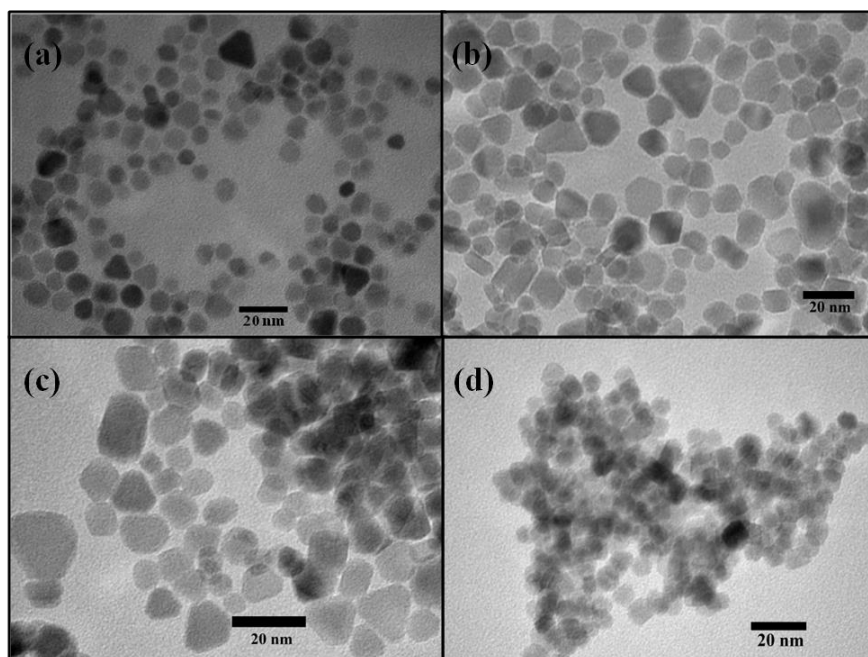
Reactivii (precursorul magnetic și agenții de capping) se dizolvă prin agitare mecanică în solventul dorit. Amestecul de reacție astfel obținut este tranvazat într-un vas cilindric deschis, cu fund rotund, confecționat din sticlă termorezistentă. Vasul respectiv este introdus în interiorul unui reactor confecționat din oțel inoxidabil, prevăzut cu un capac care se poate fixa prin intermediul unor șuruburi. Capacul prezintă un șanț de fixare care se căpтуșește cu bandă de TEFLON pentru a asigura etanșeitatea reactorului (se previne, astfel, evaporarea solventului și a celorlalte componente lichide). După fixarea etanșă a capacului, reactorul este introdus într-un cuptor, prevăzut cu un regulator de temperatură care permite realizarea de programe de încălzire. După terminarea programului de încălzire, NPMag obținute sunt separate de supernatant cu ajutorul unui magnet de neodim-fier-bor într-un pahar Berzelius. Excesul de material organic, sau materialul care nu a reacționat, se îndepărtează prin efectuarea unor cicluri de spălare care constau în dispersarea NPMag într-un amestec de etanol/toluen(hexan) (2:1) (30 ml) prin ultrasonicare și separarea magnetică a acestora. NPMag spălate sunt redispersate prin ultrasonicare în 10 ml etanol și stocate în tubușoare de plastic pentru investigații ulterioare.

În elaborarea de NPMag cu o formă și dimensiune bine stabilită, s-a demarat de la următoarea compozitie : un amestec de : 1 mmol Fe(acac)<sub>3</sub> ~ 350 mg, 6 mmoli acid oleic ~ 1.9 mL, 6 mmoli oleilamină ~ 2.0 mL, 2 mmoli hexadecandiol ~ 520 mg, a fost dizolvat în 20 mL de dibenzileter (DBE). Amestecul de reacție a fost introdus în cuptor și încălzit treptat, conform următoarei scheme:

$Temp. camerei (25^{\circ}C) \xrightarrow[\sim 5^{\circ}C/min]{35 min} 200^{\circ}C (sta\text{ț}ionare 2h) \xrightarrow[\sim 3^{\circ}C/min]{34 min} 300^{\circ}C (sta\text{ț}ionare 1h)$
---

Conform figurii 1.3.1a se disting două tipuri de NPMag: un procent ridicat prezintă o formă sferică cu un diametru mediu în jurul a 10 nm, iar restul au o formă cvasi-sferică – printre acestea se regăsesc NPMag triunghiulare sau poliedrice.

#### *Influența diluției amestecului de reacție*



**Figura 1.3.1.** Imagini TEM ale NPMag: (a) NPMag prototip (b) NPMag lotul 10 mL DBE (c) NPMag lotul 20 mL DBE (d) NPMag lotul 40 mL DBE.

Într-o primă etapă, s-a studiat influența diluției amestecului de reacție asupra morfologiei și dimensiunii NPMag obținute. Astfel, s-au realizat 3 sinteze de nanoparticule magnetice utilizând cantitățile de reactivi de mai sus, din care s-a eliminat hexadecandiolul. Amestecul a fost dizolvat în 10, 20 și 40 mL dibenzileter și încălzit conform schemei de mai sus. Imaginile TEM obținute pe NPMag astfel sintetizate sunt ilustrate figura 1.3.1b-d. NPMag sintetizate într-un volum de 10 ml de dibenzileter (figura 1.3.1b) își pierd din sfericitate, procentul celor cu o formă cvasi-sferică crește și în același timp dimensiunea medie a acestora se apropie semnificativ spre 18 nm. Se observă că nu există diferențe semnificative între lotul 10 mL DBE și cel 20 mL DBE (figura 1.3.1c) în ceea ce privește forma și dimensiunile NPMag. În cazul lotului 40 mL DBE (figura 1.3.1d), NPMag obținute sunt mai mici decât în primele două cazuri și prezintă o tendință mai mare de agregare. Se poate concluziona faptul că prezența

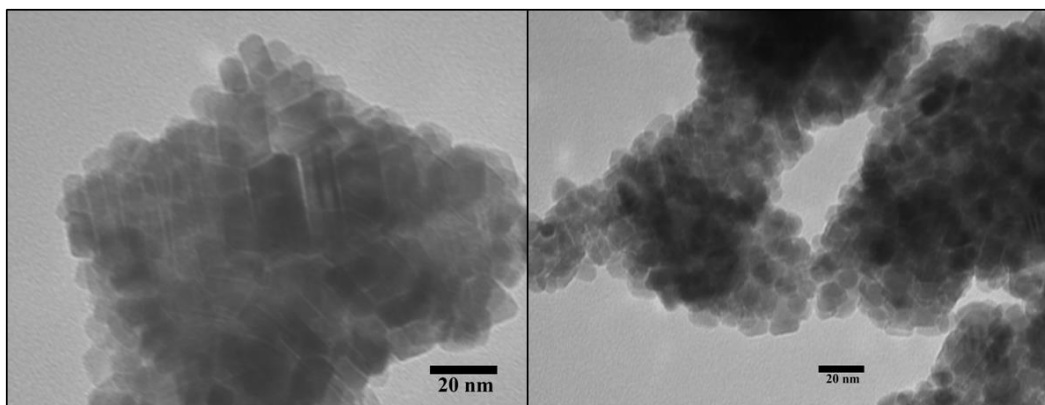
hexadecandiolul în amestecul de reacție ar ajuta la formarea de NPMag sferice, dar în același timp lungimea mare a lanțului hidrocarbonat ar putea ”să blocheze” creșterea în dimensiune a NPMag. Un volum de 20 ml de DBE ar fi suficient pentru obținerea de NPMag de o calitate ridicată.

În cadrul acestei metode de sinteză rampa de încălzire se relevă un parametru extrem de important în definirea formei și dimensiunii NPMag, în special cea între 200°C și 300°C. Precizăm că staționarea la 200°C timp de 2 h este necesară pentru descompunerea termică eficientă a precursorului magnetic utilizat. Totodată metoda prezentă de sinteză presupune, după cum am precizat mai sus, încălzirea vasului de reacție din oțel inoxidabil într-un cuptor. Astfel, s-ar putea ca rampa de încălzire generată de cuptor să nu fie transferată integral vasului de reacție și apoi amestecului de reacție. Din acest punct de vedere sistemul folosit de noi prezintă un dezavantaj, drept pentru care în acest interval de timp echipa de cercetare a lucrat la dezvoltarea unui dispozitiv de sinteză de tip Schlenk care va permite determinarea exactă a rampei de încălzire a amestecului de reacție.

Prin urmare, amestecul fără hexadecanediol într-un volum de 20 ml de DBE a fost încălzit cu o rampă de încălzire de 1°C /min de la 200°C la 300°C, restul parametrilor rămânând nemodificați:

$Temp. \text{camerei} (25^{\circ}\text{C}) \xrightarrow{\sim 5^{\circ}\text{C}/\text{min}}^{35 \text{ min}} 200^{\circ}\text{C} (\text{staționare } 2\text{h}) \xrightarrow{\sim 1^{\circ}\text{C}/\text{min}}^{100 \text{ min}} 300^{\circ}\text{C} (\text{staționare } 1\text{h})$
--

Conform cu imaginile TEM din figura 1.3.2 se obțin NPMag cvasi-sferice de dimensiuni mici (~10 nm) și cu o tendință pronunțată de agregare. Printre acestea se observă formarea de NPMag paralelipipedice cu înalțimea de 20 nm. Dat fiind faptul că nu am reușit să îmbunătățim forma și nici să creștem dimensiunea, am decis să menținem rampa finală de încălzire la 3°C /min pentru sintezele ulterioare.



**Figura 1.3.2.** NPMag obținute cu o rampă de încălzire de 1°C/min.

În etapa următoare, am variat raportul molar între acidul oleic și oleilamină, menținând constantă suma cantităților celor 2 substanțe (12 mmoli). Astfel, am realizat o serie de sinteze în care oleilamina a fost componentul majoritar și o altă serie de sinteze în care acidul oleic a fost componentul majoritar, după cum urmează:

\* Acid oleic < oleilamină:

- 1:2 (4 mmoli acid oleic ~ 1.3 mL + 8 mmoli oleilamină ~ 2.7 mL)

- 1:3 (3 mmoli acid oleic ~ 0.95 mL + 9 mmoli oleilamină ~ 3 mL)

- 1:4 (2.4 mmoli acid oleic ~ 0.75 mL + 9.6 mmoli oleilamină ~ 3.2 mL)

\* Acid oleic > oleilamină:

- 2:1 (8 mmoli acid oleic ~ 2.55 mL + 4 mmoli oleilamină ~ 1.35 mL)

- 3:1 (9 mmoli acid oleic ~ 2.9 mL + 3 mmoli oleilamină ~ 1 mL)

- 4:1 (9.6 mmoli acid oleic ~ 3.05 mL + 2.4 mmoli oleilamină ~ 0.85 mL)

Amestecul de reacție nu a suferit modificări, cu excepția faptului că s-au introdus 2 mmoli hexadecandiol. Astfel, compoziția amestecului de reacție a fost:

-1 mmol Fe(acac)<sub>3</sub> ~ 350 mg

-2 mmoli hexadecandiol ~ 520 mg

-x mmoli acid oleic ~  $V_1$  mL

-y mmoli oleilamină ~  $V_2$  mL

Schema de încălzire a fost următoarea:

*Temp. camerei (25°C)  $\xrightarrow{\sim 5^\circ\text{C}/\text{min}}^{35 \text{ min}}$  200°C (staționare 2h)  $\xrightarrow{\sim 3^\circ\text{C}/\text{min}}^{34 \text{ min}}$  300°C (staționare 1h)*

În cazul nanoparticulelor sintetizate cu surplus de oleilamină, s-au observat următoarele aspecte în urma analizei imaginilor TEM (figura 1.3.3):

- NPMag din lotul 1:2 au prezentat dimensiuni mici (~5 nm), un grad înalt de monodispersie, formă sferică și o tendință pronunțată de agregare.
- NPMag din lotul 1:3 au prezentat un grad mai mic de monodispersie (unele având ~ 5 nm, altele având ~ 10 nm), formă poliedrică și o tendință de agregare mai redusă.
- NPMag din lotul 1:4 au prezentat caracteristici similare cu cele din lotul 1:3, singura diferență aparentă constând în faptul că unele dintre acestea au prezentat dimensiuni > 10 nm, unele având ~ 15 nm.

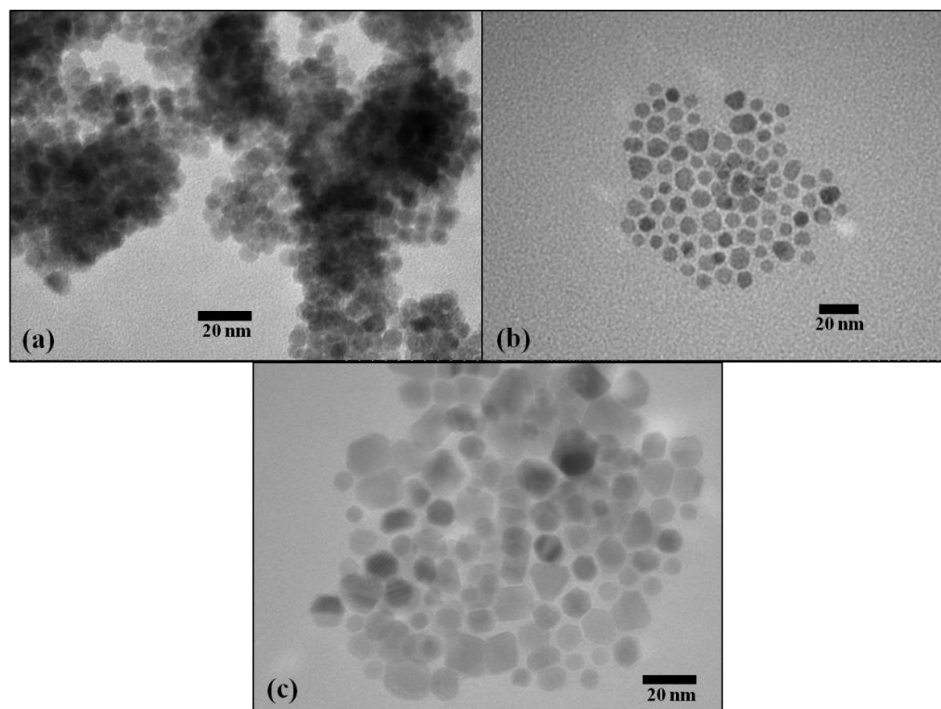
În cazul nanoparticulelor sintetizate cu surplus de acid oleic, s-au observat următoarele aspecte în urma analizei imaginilor TEM (figura 1.3.4):

- NPMag din lotul 2:1 au prezentat un grad scăzut de monodispersie (dimensiuni de ~ 5-10 nm), formă poliedrică și tendință de agregare redusă.
- NPMag din lotul 3:1 au prezentat un grad mai înalt de monodispersie, dimensiuni mai mari (unele având ~ 20 nm) formă poliedrică și tendință de agregare redusă.
- NPMag din lotul 4:1 au prezentat un grad înalt de monodispersie, tendință de fațetare mai scăzută și tendință de agregare mai ridicată.

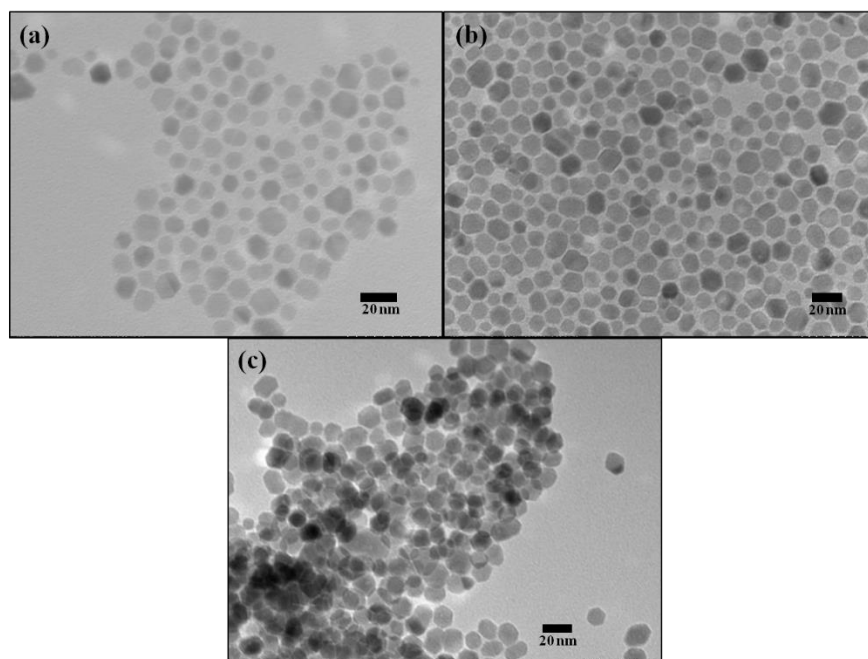
Excesul de oleilamina conduce la formarea de NPMag cu o polidispersivitate crescută.

În schimb, excesul de acid oleic conferă NPMag o formă poliedrică uniformă dispunând de un

grad ridicat de monodispersivitate. Dat fiind faptul că NPMag sintetizate utilizând un raport molar acid oleic:oleilamină de 3:1 (sau 4:1) au cele mai bune caracteristici, am decis utilizarea acestei formule pentru etapele următoare.



**Figura 1.3.3.** Imagini TEM ale NPMag sintetizate cu surplus de oleilamină (a) 1:2 (b) 1:3 (c) 1:4 (acid oleic:oleilamină)



**Figura 1.3.4.** Imagini TEM sintetizate cu surplus de acid oleic (a) 2:1 (b) 3:1 (c) 4:1 (acid oleic:oleilamină)

Pentru a crește dimensiunile NPMag. s-a folosit un proces de sinteză *seed-mediated*. Astfel am utilizat NPMag sintetizate, conform rețetei cu acid oleic : oleilamină în raport molar 3:1 pe post de *seed-uri* (centri de cristalizare). Seed-urile au fost extrase din supernatant și introduse într-un al doilea amestecul realizat în prealabil (similar cu primul) iar amestecul final fiind amestecat mecanic 15 minute, după care încălzit conform aceleiași scheme.

Cu scopul de varia dimensiunea NPMag, am efectuatt două sinteze în care am utilizat 0,5 mmoli și respectiv 3 mmoli de precursor magnetic conform formulelor:

Sinteza 1 (cantitate mai mică de precursor magnetic):

-0.5 mmoli Fe(acac)<sub>3</sub> ~ 175 mg

-2 mmoli hexadecandiol ~ 520 mg

-9 mmoli acid oleic ~ 2.9 mL

-3 mmoli oleilamină ~ 1 mL

<i>Temp. camerei</i> (25°C) $\xrightarrow{\sim 5^{\circ}\text{C}/\text{min}}^{35 \text{ min}}$ 200°C ( <i>staționare 2h</i> ) $\xrightarrow{\sim 3^{\circ}\text{C}/\text{min}}^{34 \text{ min}}$ 300°C ( <i>staționare 1h</i> )
---

Sinteza 2 (cantitate mai mare de precursor magnetic):

-3 mmoli Fe(acac)<sub>3</sub> ~ 1050 mg

-2 mmoli hexadecandiol ~ 520 mg

-9 mmoli acid oleic ~ 2.9 mL

-3 mmoli oleilamină ~ 1 mL

<i>Temp. camerei</i> (25°C) $\xrightarrow{\sim 5^{\circ}\text{C}/\text{min}}^{35 \text{ min}}$ 200°C ( <i>staționare 2h</i> ) $\xrightarrow{\sim 3^{\circ}\text{C}/\text{min}}^{34 \text{ min}}$ 300°C ( <i>staționare 1h</i> )
---

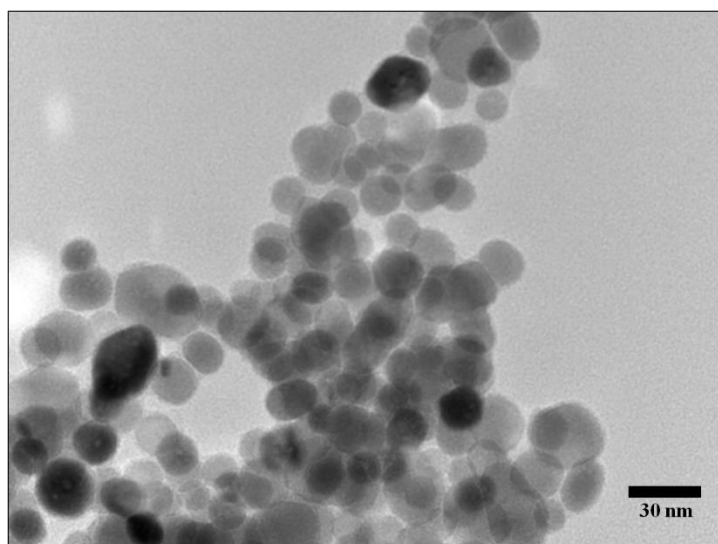
- ***Obținerea nanoparticulelor de magnetită și maghemită prin descompunere termică în mediu hidrofîl***

În cadrul acestui tip de sinteză s-au utilizat etilenglicolul și tetraetilenglicolul în calitate de solvenți cu caracter hidrofîl. Acetilacetonatul de fier (III) și clorura de fier (III) hexahidrat

au reprezentat precursorii magnetici. S-a utilizat aceeași metodă de sinteză descrisă mai sus cu mici modificări, și anume: amestecul a fost de data aceasta încălzit la 50°C în timp ce era amestecat prin agitare magnetică, iar NPMag au fost spălate cu amestec de alcool etilic/apă distilată (1:1), într-un final fiind redispersate în apă dublu distilată.

Prima sinteză realizată a implicat descompunerea termică a acetilacetonatului de fier (III) în tetraetilenglicol. Aceasta a fost realizată prin încălzirea unei soluții obținute prin dizolvarea a 1 mmol  $\text{Fe}(\text{acac})_3 \sim 350 \text{ mg}$  în 40 mL tetraetilenglicol, conform schemei utilizate la sinteza NPMag hidrofobe:

*Temp. camerei (25°C)  $\xrightarrow[\sim 5^\circ\text{C}/\text{min}]{35 \text{ min}}$  200°C (staționare 2h)  $\xrightarrow[\sim 3^\circ\text{C}/\text{min}]{34 \text{ min}}$  300°C (staționare 1h)*



**Figura 1.3.5.** NPMag sintetizate în tetraetilenglicol cu acetilacetonat de fier.

După cum se poate observa în figura 1.3.5, NPMag obținute au prezentat o formă sferică. Tendința de fațetare este foarte redusă, în schimb remarcându-se o tendință de alungire a acestora. Din punct de vedere al dimensiunii, se pot distinge două populații de nanoparticule: medii (10-20 nm) și mari (>20 nm). Tendința de agregare a nanoparticulelor, caracteristică NPMag sintetizate în polioli, este evidentă, însă nu este foarte pronunțată.

În cadrul celei de-a doua sinteze s-a utilizat clorura de fier pe post de precursor magnetic.  
Amestecul:



-1 mmol  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ~ 270 mg

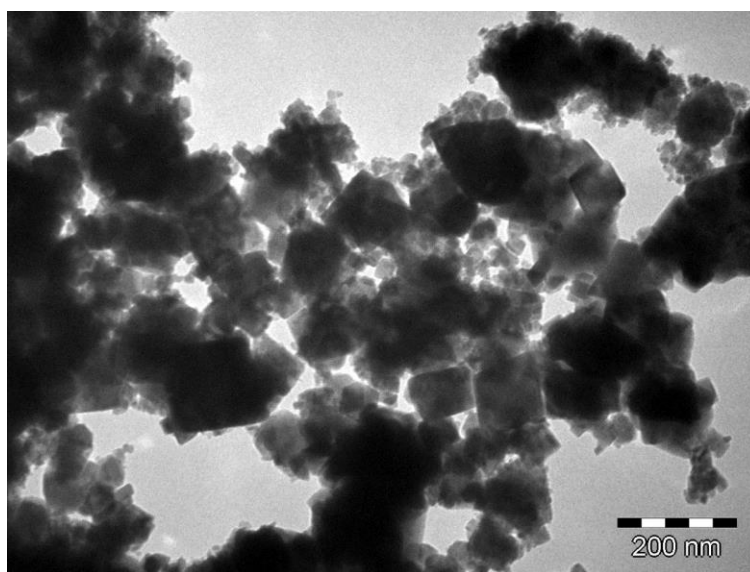
-1.2 g acetat de sodiu (rol în neutralizarea acidității generate prin hidroliza  $\text{FeCl}_3$ )

- 40 ml de tetraetilen glicol

încălzit conform următoarei scheme:

*Temp. camerei (25°C)  $\xrightarrow{\sim 3^\circ\text{C}/\text{min}}^{90 \text{ min}}$  300°C (staționare 1h)*

dă naștere la NPMag poliedrice foarte polidisperse cu un grad ridicat de agregare conform figurii 1.3.6a.



**Figura 1.3.6a.** NPMag sintetizate în tetraetilenglicol cu clorură de fier.

Descompunerea termică a acetilacetonatului în etilen glicol, conform schemei prezentate mai sus, nu conduce la formarea de NPMag. Pudra obținută nu este atrasă de magnet și astfel procesul de spălare nu s-a putut realiza. În schimb, utilizarea cloruri de fier conduce la formarea de NPMag.

Astfel amestecul:

-1 mmol  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ~ 270 mg

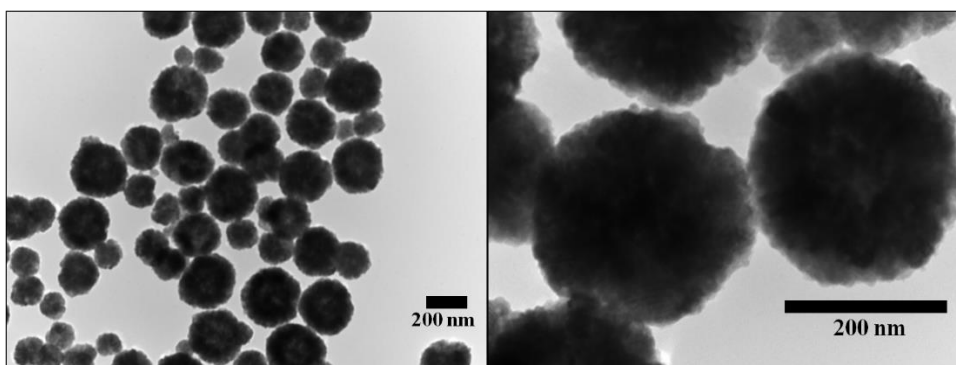
-1.2 g acetat de sodiu (rol în neutralizarea acidității generate prin hidroliza  $\text{FeCl}_3$ )

- 40 ml de etilen glicol

încălzit conform următoarei scheme:

*Temp. camerei (25°C)  $\xrightarrow{\sim 5^{\circ}\text{C}/\text{min}}^{45 \text{ min}}$  250°C (staționare 2h)*

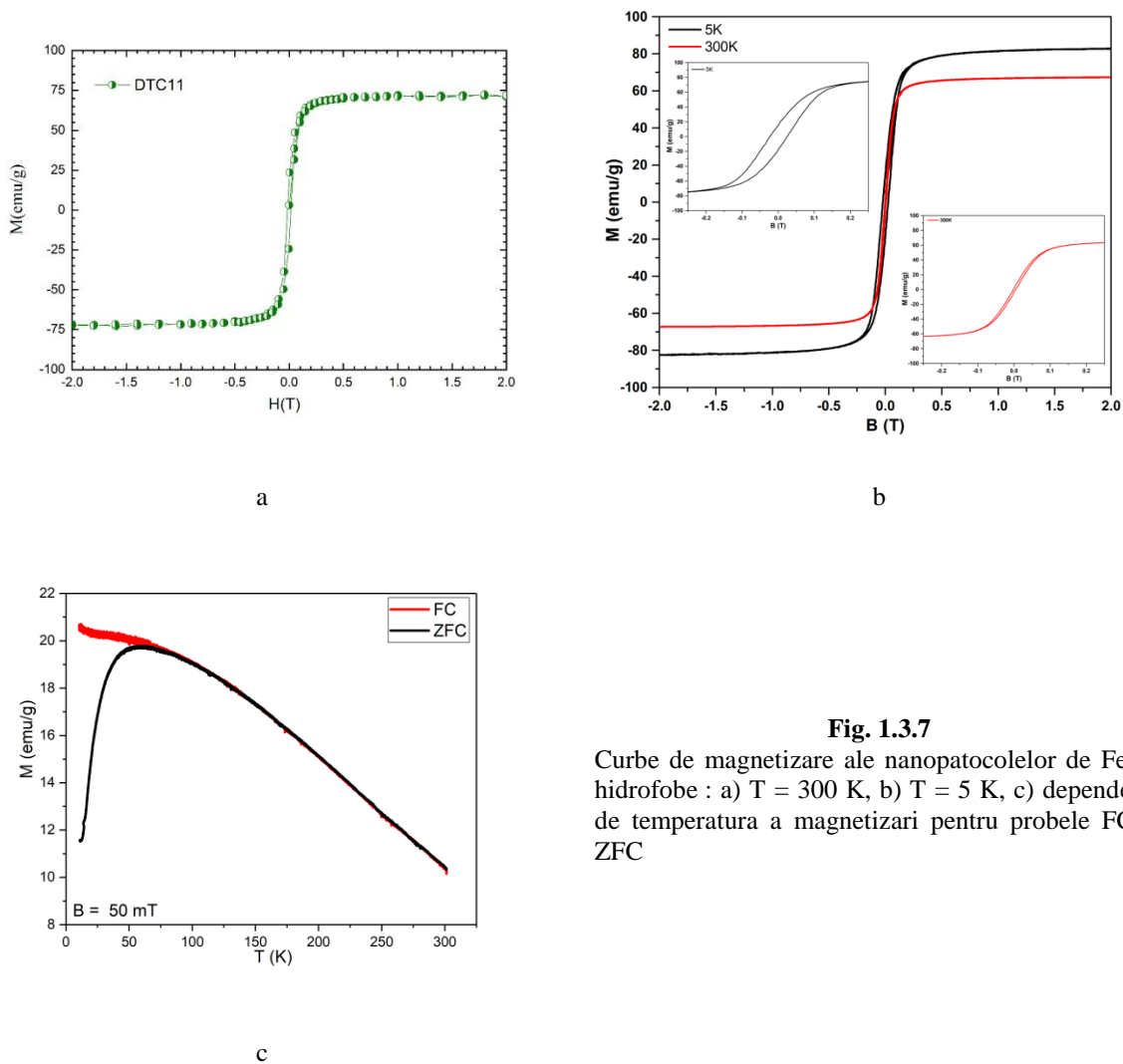
dă naștere la NPMag gigantice (>100 nm) de formă sferică, multe dintre acestea având dimensiuni de peste 200 nm, conform figurii 1.3.6b.



**Figura 1.3.6b.** NPMag sintetizate în etilenglicol cu clorură de fier.

Au fost investigate proprietățile magnetice ale nanoparticulelor sintetizate (Fig. 1.3.7). Măsurătorile au fost efectuate atât la temperatura mediului ambiant cât și la  $T = 5\text{K}$ . Așa cum se poate vedea din figurile 1.3.7a și b nanoparticulele magnetice prezintă valori ale magnetizării de saturație cuprinse între 70 și 80 emu/g. Câmpul coercitiv, măsurat tot la temperatura mediului ambiant este de 2500 Oe, valorile  $H_c$  scăzând la  $T = 5\text{K}$  (insetul din Figura 1.3.7b).

Din analiza acestor valori putem afirma faptul că nanoparticulele magnetice de oxid de fier sintetizate prin metoda descompunerii termice în solvent organic au formula chimică  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (magnetită) și au un caracter superparamagnetic la temperatura camerei.



**Fig. 1.3.7**  
 Curbe de magnetizare ale nanopatocolelor de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  hidrofobe : a)  $T = 300$  K, b)  $T = 5$  K, c) dependenta de temperatura a magnetizari pentru probele FC si ZFC

Au fost abordate doua metode mari de sinteza a nanoparticulelor magnetice:

- A. Sinteza nanoparticulelor magnetice de oxid de fier folosind descompunerea termica in solventi organici hidrofobi.
- B. Sinteza nanoparticulelor magnetice de ferite de cobalt si oxid de fier folosind diferite metode de sinteza.

Rezultate obtinute pana in prezent:

- Au fost sintetizate nanoparticule sferice de oxid de fier avand un caracter superparamagnetic si dimensiuni mai mici de 10 nm.
- Nanoparticulele sintetizate au fost investigate prin TEM (UMF)

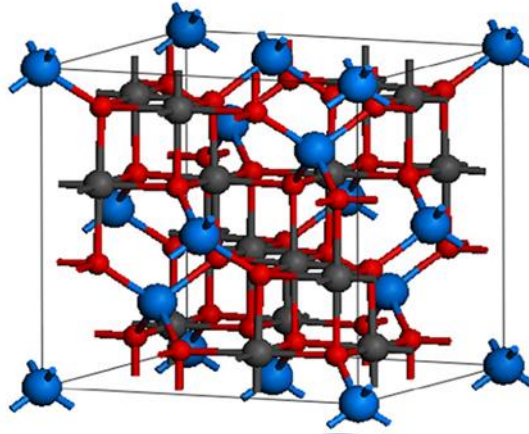
- S-a încercat obținerea unor nanoparticule de dimensiuni mai mari, folosind tehnica *seed-mediated growth*. Din păcate, s-a obținut un conglomerat de nanoparticule de aceleași dimensiuni, nereușindu-se creșterea diametrului acestora. Aceeași observație a fost făcută și anterior, deci ea reprezintă o informație utilă care poate fi introdusă în raport.
- S-au sintetizat nanoparticule magnetice de oxid de fier de dimensiuni mai mari (~25 nm) de formă cubică. Din primele investigații, acestea prezintă un caracter feromagnetic.
- Utilizând o metodă interesantă de sinteză care folosește PEG-ul și EtilenGlicolul ca și agent reductor au fost obținute NP magnetice mari (zeci spre sute de nanometri) care bineînțeles nu sunt superparamagnetice. Aceste nanoparticule au fost caracterizate după proprietățile magnetice în prealabil. Marea problemă aici este legată de faptul că ele agregă. În viitor prin sinteză acestea vor fi acoperite cu un polimer sau o altă moleculă care să împiedice agregarea lor.

## **1.2.2, 1.3.2 Sinteza nanoparticulelor de $\text{CoFe}_2\text{O}_4$**

### **1.2.2a, 1.2.3a Introducere**

În structura de tip spinelic a feritelor  $\text{AB}_2\text{O}_4$ , cationii în pozițiile A și respectiv B ocupă poziții octaedrice ( $\text{O}_h$ ) și respectiv tetraedrice ( $\text{T}_d$ ) într-o subrețea formată din atomii de oxigen cu structură cubică cu fețe centrate – Fig. 1.1b. Structura cristalină are grupul spațial  $\text{Fd}\bar{3}m$ . În ferita  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ , gradul de ocupare a pozițiilor  $\text{O}_h$  și  $\text{T}_d$  depinde de procedura folosită pentru tratamentul termic, precum și vecinătatea chimică. Distribuția cationilor în rețea, poate fi caracterizată prin gradul de inversie  $x$ , definit prin fracțiunea de cationi divalenți în pozițiile octaedrice  $(\text{Co}_{1-x}\text{Fe}_x)_+[\text{Co}_x\text{Fe}_{2-x}]_0\text{O}_4^-$ . În structura de tip spinelic, normală ( $x = 0$ ), pozițiile tetraedrice și octaedrice sunt ocupate de ioni divalenți și respectiv trivalenți. Într-o structură de tip spinelic inversă ( $x = 1$ ), cationi divalenți ocupă poziții octaedrice iar cei trivalenți sunt situați

în mod egal, în poziții tetraedrice și respectiv octaedrice. Dacă structura este parțial spinelică, acesta este considerată dezordonată, cationii trivalenți și divalenți putând fi distribuiți în ambele poziții. Pentru o structură stabilă  $AB_2O_4$  raportul dintre numărul de ioni trivalenți și respectiv divalenți este de 2/1. Temperaturile Curie a feritei  $CoFe_2O_4$  este  $T_c = 530$  K.



**Fig. 1.3.8** Structura de tip spinelic, pozițiile tetraedrice cu albastru iar octaedrice cu roșu.

Este important ca dimensiunea nanoparticulelor să fie mai mare decât cea caracteristică unei comportări de tip superparamagnetic. O comportare de tip superparamagnetic poate fi observată la particule de  $CoFe_2O_4$  mai mici de 4-8 nm.

#### **1.2.2.b, 1.3.2.b Sinteza nanoparticulelor de $CoFe_2O_4$ și proprietățile fizice ale acestora**

Nanoparticulele magnetice de  $CoFe_2O_4$ , cu morfologie și proprietăți controlate, s-au obținut folosind trei metode de sinteză și anume sol-gel, solvotermală și respectiv hidrotermală.

- ***Obținerea nanoparticulelor de  $CoFe_2O_4$  prin metoda sol-gel***

Metoda sol-gel implică formarea unui sol coloidal concentrat în ioni metalici și convertirea acestuia la un gel, de regulă prin evaporarea solventului, urmată de descompunerea termică a gelului cu formare de nanoparticule oxidice.

Drept materiale precursore s-au utilizat:  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ,  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ , sucroză (agent de policondensare) și pectină (agent de chelatizare).

În această metodă  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  au fost dizolvați în apă distilată sub agitare magnetică constantă, 1.5 mmoli de  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  și 3 mmoli de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . După hidrolizarea precursorilor s-au adăugat 10 și respectiv 20 de grame de sucroză. S-a adăugat apoi o cantitate de 20% pectină raportat la conținutul de sucroză, controlând pH-ul soluției cu acid azotic, ca acesta să fie în intervalul  $\text{pH} = 1-2$ . Soluția astfel obținută, a fost încălzită pe baia de nisip la  $230\text{ }^\circ\text{C}$ , până la formarea unui gel rigid. Gelul a fost tratat termic la  $700\text{ }^\circ\text{C}$  timp de o oră. În urma tratamentului termic, s-a obținut o pulbere magnetică de culoare neagră.

- ***Obținerea de nanoparticule de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  prin metoda solvotermală***

Metoda solvotermală presupune descompunerea precursorilor metalici și reacția acestora sub temperatura de fierbere a solventului. Pentru obținerea de nanoparticule de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  s-au folosit: acetylacetonat de fier (III) ( $\text{Fe}(\text{AcAc})_3$ ), acetylacetonat de cobalt (II) ( $\text{Co}(\text{AcAc})_2$ ), tetraethilenglycol (solvent).

După dizolvarea precursorilor în tetraethilenglycol (1 mmol  $\text{Co}(\text{AcAc})_2$  și 2 mmoli de  $\text{Fe}(\text{AcAc})_3$ ), soluția a fost adusă la temperatura de fierbere a solventului ( $314\text{ }^\circ\text{C}$ ) și refluxată la această temperatură timp de 12 ore. Probele au fost tratate termic. După spălarea repetată cu alcool etilic și dietil eter, s-a separat pudra de culoare neagră de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ .

- ***Obținerea de nanoparticule de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  prin metoda hidrotermală***

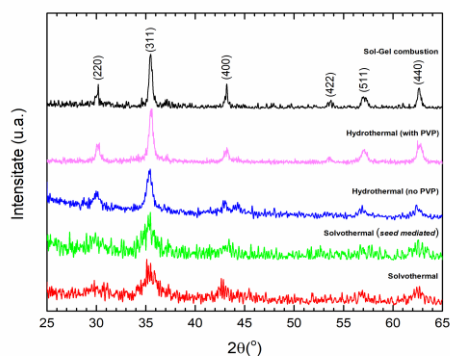
Metoda hidrotermală presupune descompunerea și reacția precursorilor metalici atât sub influența temperaturii solventului cât și a presiunii (sau a microundelor). Spre deosebire de metoda solvotermală, prin această metodă se poate folosi o gamă mai variată de precursori iar dimensiunea particulelor obținute poate fi reglată prin folosirea de surfactanți specifici. Drept materiale precursoare s-au folosit: acetylacetonat de fier (III) ( $\text{Fe}(\text{AcAc})_3$ ), acetylacetonat de cobalt (II) ( $\text{Co}(\text{AcAc})_2$ ), etilenglycol (solvent)

În urma dizolvării precursorilor în 50 ml etilenglycol (0.4 mmol  $\text{Co}(\text{AcAc})_2$  și 0.8 mmoli de  $\text{Fe}(\text{AcAc})_3$ ), soluția a fost introdusă într-o autoclavă confecționată din Polypropiolactone cu

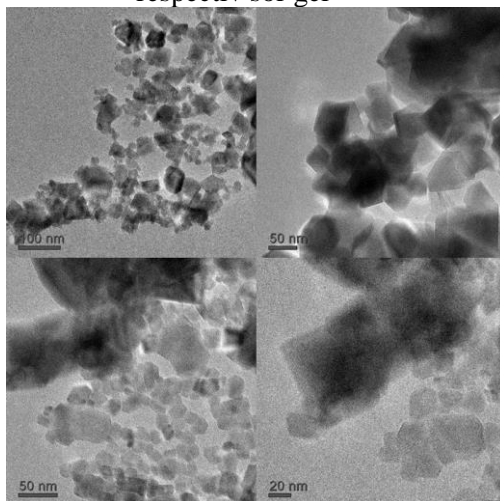
capacitatea de 100 ml. Soluția a fost tratată termic la temperatura de 240 °C, timp de 23 ore. Drept agent de control al dimensiunii și morfologiei s-a folosit polyvinylpyrrolidone (0.4g).

### 1.3.2 Morfologia particulelor, proprietăți structurale și magnetice

Studiile prin raze – X evidențiază faptul că probele obținute cristalizează într-o rețea de tip spinel, grup spațial Fd3m – Fig. 1.3.9. În cazul pulberilor obținute prin metoda hidrotermală fără PVP, în adăuție la faza spinelică este prezentă faza Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, conținutul acestora fiind de 5-6%. Parametrii de rețea variază puțin cu metoda de preparare fiind  $a = 8.380 \pm 0.001 \text{ \AA}$ . Dimensiunile particulelor variază între 10 nm, în cazul probelor obținute prin procedeul hidrotermal și 80 nm prin metoda sol-gel. Particulele au o formă neregulată, în majoritatea cazurilor cu aspect polygonal.



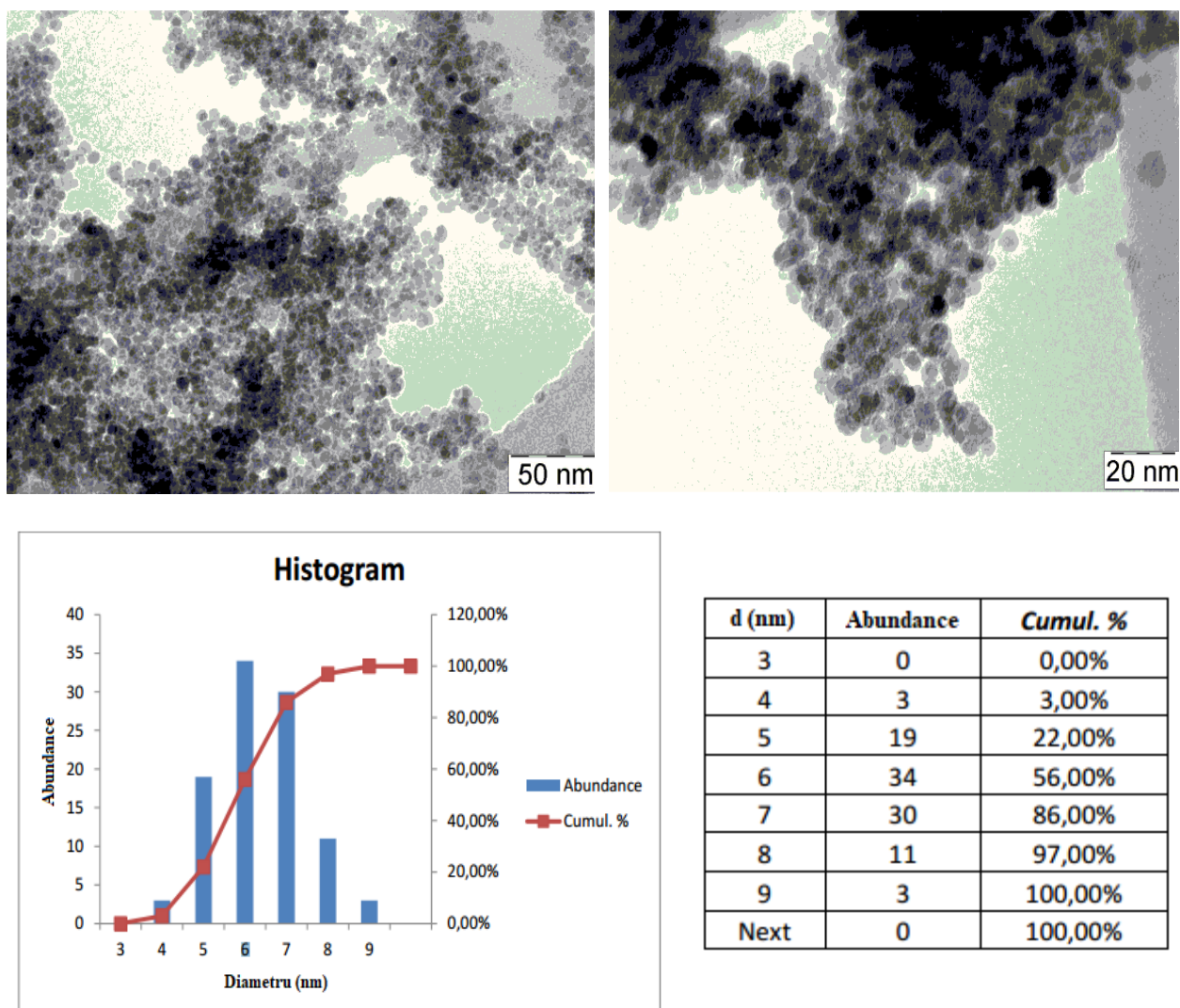
**Fig. 1.3.9** Difractograme ale nanoparticulelor obținute prin metodele solvotermlă, hidrotermală și respectiv sol-gel



**Fig. 1.3.10.** Imagini TEM ale nanoparticulelor de CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, obținute prin metoda de combustie sol-gel

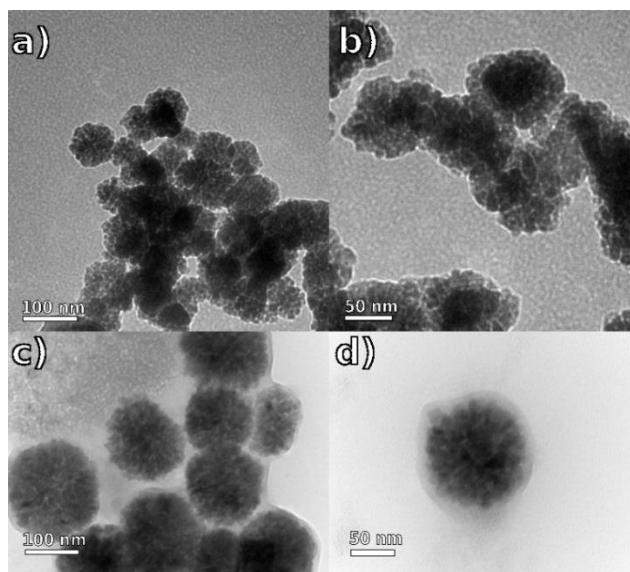
Morfologia particulelor a fost determinată folosind microscopie electronică de transmisie (TEM). În cazul probelor obținute prin metoda sol-gel, apar aglomerări de nanoparticule, având dimensiuni între 10 și 100 nm – Fig. 1.3.10. Prin metoda solvotermală s-au obținut particule cu dimensiuni între 5 și 7 nm, gradul de aglomerare fiind mai mic – Fig. 1.3.11.

Nanoparticulele obținute prin metoda *seed mediated growth* au dimensiuni apropiate de cele obținute prin metoda solvotermală normală, cu o formă poligonală, dar apropiată de forma sferică.



**Fig. 1.3.11.** Imagini TEM ale nanoparticulelor de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ , obținute prin metoda solvotermală și histograma aferentă

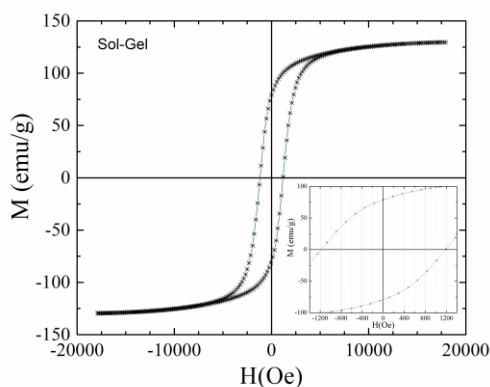




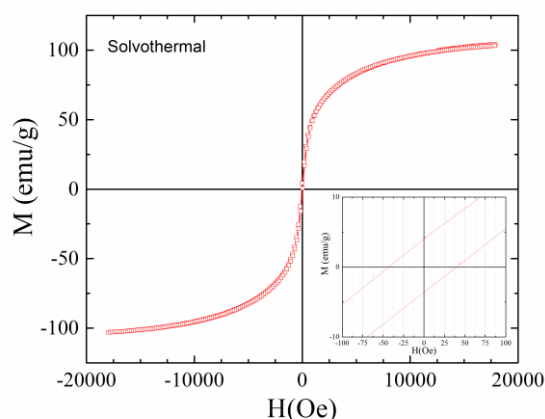
**Fig. 1.3.12.** Imagini TEM obținute prin sinteză hidrotermală fără (a și b) și respectiv folosind PVP (c și d)

Nanoparticulele obținute prin metoda hidrotermală, în prezența PVP, au o formă aproape sferică, cu dimensiuni între 30-40 nm. Polimerul PVP utilizat, "îmbracă" particulele, evitând astfel formarea de aglomerări – Fig. 1.3.12. Lipsa PVP în procesul de sinteză, conduce la prezența, unor aglomerări de particule, dimensiunile acestora fiind situate între 10-15 nm.

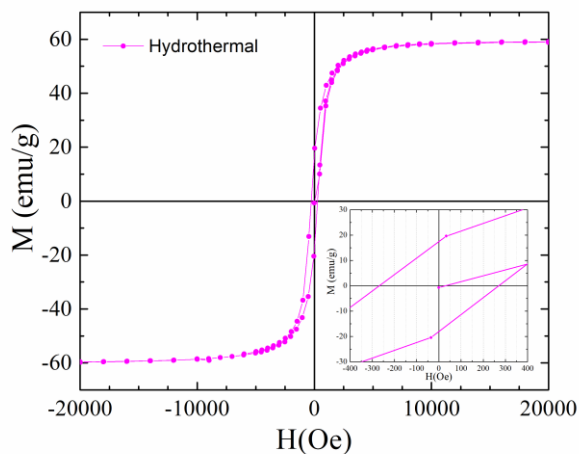
Curbele de magnetizare, determinate la  $T=300$  K, evidențiază faptul că magnetizările sunt saturate în câmpuri mai mari de 10 kOe. Câmpul coercitiv depinde de dimensiunea particulelor. Probele obținute prin metoda sol-gel, conținând aglomerări de particule cu dimensiuni între 10 și 100 nm, au un câmp coercitiv de  $\approx 1200$  Oe – Fig 1.3.13 (a).



**Figura 1.3.13** Curbele de magnetizare pentru nanoparticulele de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ , obținute prin metoda sol-gel (a). Solvotermala (b) și hidrotermala și respectiv PVP (c)



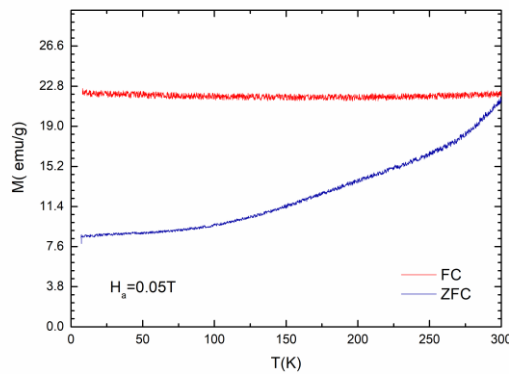
**Fig.1.3.13b**



**Fig. 1.3.13c**

Probele cu dimensiuni între 30-70 nm obținute prin metoda hidrotermală au un câmp coercitiv de  $\approx 270$  Oe. Faptul că probele cu dimensiunile de 5-7 nm, nu sunt saturate magnetic, precum și câmpul coercitiv mic, sugerează că acestea au o comportare de tip superparamagnetic. Așa cum s-a menționat în introducere și alte studii relevă acest tip de comportament, la temperatura mediului ambiant, pentru dimensiuni ale particulelor de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  de 4-7 nm.

Măsurătorile efectuate pe proba răcită în câmp nul (ZFC) și respectiv în câmp magnetic aplicat de 500 Oe (FC), pentru  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  obținută prin metoda hidrotermală cu PVP, sunt prezentate în Figura 1.3.14. Curbele ZFC-FC nu se suprapun, prezintă o bifurcație destul de largă la temperaturi joase. Nu se observă prezenta unei temperaturi de blocare până la 300 K. Probabil, după forma curbelor cele două dependențe se suprapun la temperaturi de blocare ușor mai mari de 300 K.



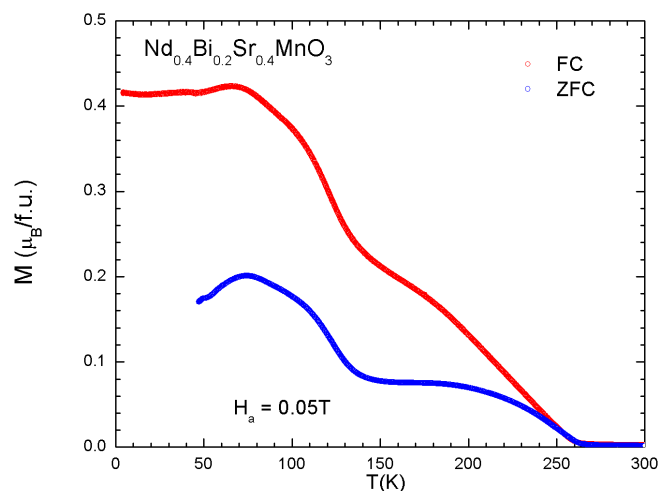
**Figura 1.3.14.** Curbele ZFC-FC pentru ferita de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  obținută prin metoda hidrotermală

### 1.2.3, 1.3.3 Materiale nanostructurale de tip perovskit

S-au sintetizat perovskite nanocristaline pe bază de mangan și respectiv fier. Perovskitele pe bază de fier, inițial au fost preparate în formă policristalină pentru a evidenția domeniul de compoziții în care structura cristalină nu se modifică cu efect al substituțiilor.

#### 1.2.3a, 1.3.3a Perovskite nanocristaline pe bază de $\text{Nd}_{0.6-x}\text{Bi}_x\text{Sr}_{0.4}\text{MnO}_3$ cu $x \leq 0,02$

Compușii nanocristalini  $\text{Nd}_{0.6-x}\text{Bi}_x\text{Sr}_{0.4}\text{MnO}_3$  cu  $x \leq 0,02$ , au fost obținuți prin metoda combustiei. Difractogramele de raze X evidențiază formarea unor structuri cristaline, având grupul spațial Pnma. Dimensiunile particulelor sunt situate între 13 și 15 nm.



**Fig. 1.3.15.** Dependențele de temperatură a magnetizării: ZFC și respectiv FC.

Măsurătorile magnetice evidențiază diferențe între dependențele de temperatură ale probelor răcite în câmp nul și respectiv de 500 Oe. Aceste date sugerează prezența unor modificări în proprietățile magnetice la  $T_1 = 130$  K și respectiv 260 K – Fig. 1.3.15. Tranziția de la  $T_1 = 130$  K poate fi de tip metal-izolator, în timp ce la  $T_c = 260$  K are loc tranziția la starea paramagnetică.

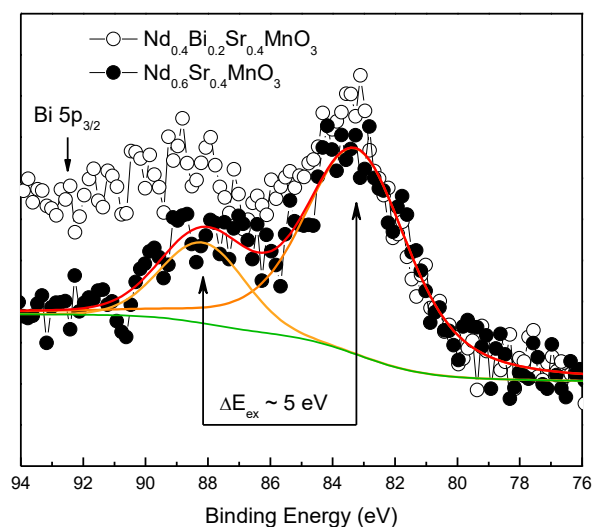


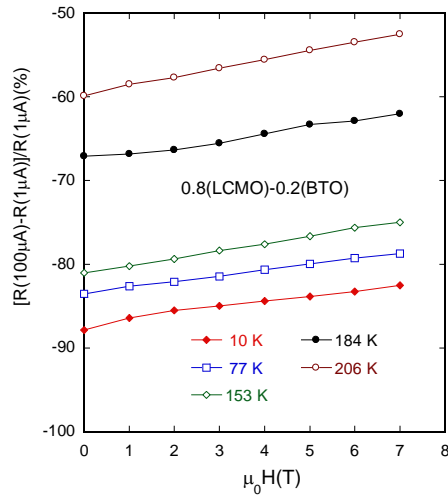
Fig. 1.3.16. Spectrele XPS Mn 3s.

Măsurătorile prin XPS evidențiază o valență medie a ionilor de mangan de +3,35, fapt ce indică un conținut de ioni  $Mn^{4+}$  de 35 % - Fig. 1.3.16. Spectrele XPS ale benzi de valență evidențiază faptul că momentele magnetice Nd4f sunt localizate.

### 1.2.3b, 1.3.3b Perovskite cu ioni ai metalelor de tranziție 3d

Au fost studiate fenomenele de magneto-transport și separarea de faze în compuși de tip  $La_{(2/3)}A_{(1/3)}MO_3$  ( $M = Mn, Co$ ;  $A = Ca, Sr$ ). Datele experimentale sugerează prezența de clusteri feromagnetici corelați în matrici ne-feromagnetice. S-a studiat ordonarea de sarcină, a ionilor de  $Mn^{3+}$  și  $Mn^{4+}$ . Efectul câmpului magnetic și al substituțiilor chimice au fost analizate în oxizii  $Ln_{(2/3)}A_{(1/3)}MO_3$  ( $Ln = La, Pr$ ;  $A = Ca, Sr, Ba$ ). Rezultatele obținute au indicat că un câmp magnetic intens “topește” ordonarea de sarcină și că substituția unor elemente

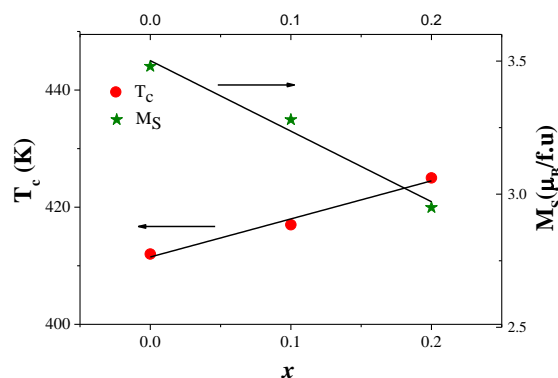
nemagnetice poate conduce la amplificarea magnetismului acestor compuși. Sistemul  $\text{La}_{1-x}\text{Ca}_x\text{MnO}_3/\text{BaTiO}_3$  ( $x = 0.45$ ) are magnetorezistență ridicată într-un interval larg de temperaturi – Fig.1.3.17.



**Fig.1.3.17** Efectul câmpului magnetic asupra magnetorezistenței sistemului  $\text{La}_{1-x}\text{Ca}_x\text{MnO}_3/\text{BaTiO}_3$  ( $x = 0.45$ )

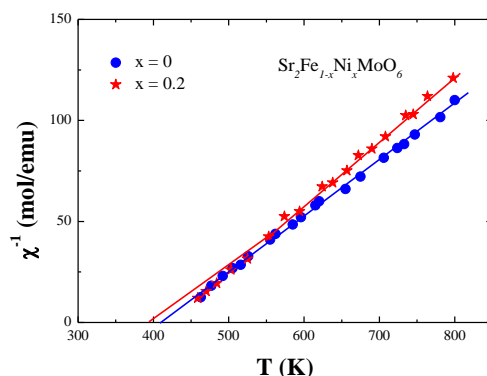
### 1.2.3c, 1.3.3c Proprietățile structurale și magnetice ale perovskitelor $\text{A}_2\text{Fe}_{1-x}\text{Ni}_x\text{MoO}_6$

În cadrul contractului am studiat și alte materiale magnetice conținând oxizi de fier, precum perovskitele din seriile  $\text{A}_2\text{Fe}_{1-x}\text{Ni}_x\text{MoO}_6$ . Sistemul de perovskite cu  $\text{A} = \text{Sr}$  cristalizează într-o structură tetragonală, având grupul spația  $\text{P6}/\text{mmm}$ . Dimensiunile particulelor, determinate prin raze X, sunt între 120-160 Å. Temperaturile Curie cresc ușor, pe măsură ce ioni de fier sunt substituiți prin nickel, de la 407 K ( $x = 0$ ) la 424 K ( $x = 0,2$ ). Magnetizările la saturație scad treptat de la 3,5  $\mu_B/\text{f.u.}$  la 2,80  $\mu_B/\text{f.u.}$  – Fig. 1.3.18.



**Fig.1.3.18** Dependențele de compoziție ale magnetizării la  $T = 4,2$  K și a temperaturilor Curie.

Inversul susceptibilității magnetice urmează o dependență de temperatură, neliniară, specifică materialelor ferimagnetice - Fig.1.3.19 . Structura cristalină de tip I4/mmm conține două poziții cristalografice, B și B'. În forma ordonată atomii de Fe și Ni sunt situați în poziții B iar cei de Mo în B', Frațiunea de ioni de fier în pozițiile B' (antisite) crește odată cu conținutul de nickel.



**Fig.1.3.19** Dependențele de temperatură ale inversului susceptibilităților magnetice.

S-a determinat distribuția atomilor constituenți în pozițiile B și B'. Totodată s-a estimat ca 65 % dintre atomii de Fe sunt în starea de valență +2, iar 35 % sunt ioni ferici ( $Fe^{3+}$ ). Plecând de la un model cu două subrețele magnetice, s-au determinat parametrii caracterizând interacțiunile de schimb între și în interiorul subrețelelor magnetice B și B'. Constanta de schimb  $J_{BB'}$  este negativă și crește în valoare absolută de la -24 la -25,4, pe măsură ce crește conținutul de nickel. Interacțiunile magnetice în interiorul subrețelei magnetice B' cresc în timp ce în cea de tip B scad, rezultat al substituției atomilor de  $Fe^{2+}$  prin  $Ni^{2+}$ , precum și a numărului de poziții de tip antisite implicând prezența atomilor de Mo în poziția B.

Astfel în funcție de compoziție, aceste materiale își pot modifica magnetizările prin 20 %, iar temperaturile Curie prin 5 %.

## 2. Interacțiunea moleculă-nanoparticulă; amplificarea semnalului Raman

Înțelegerea interacțiunii moleculă-nanoparticulă, este de interes pentru realizarea proiectului pentru că ar putea elucidă mecanisme fundamentale, cum ar fi toxicitatea

nanoparticulelor. Literatura indică nanoparticulele metalice ca fiind generatoare de specii reactive de oxigen în prezența luminii, modele mai recente presupun un transfer de electroni între nivelul Fermi al metalului (sau banda de conducție a nanoparticulelor de tip semiconductor) și orbitalul LUMO al moleculei adsorbite. Aceași întrebare rămâne deschisă și în domeniul catalizei, facilitate de nanoparticule și anume dacă transferul de electroni este direct sau indirect.

Tehnicile AFM, STM, TEM, XPS sunt metode fizice consacrate ce pot investiga interacțiuni la nivel moleculă-nanoparticulă. Totuși, aceste metode sunt limitate de condițiile experimentale, astfel că investigarea interacțiunii moleculă-nanoparticulă *metalică*, în soluție coloidală, este dificilă. În mod particular, tehnica SERS (surface-enhanced Raman scattering) se pretează doar pentru asemenea sisteme (adsorbat-nanoparticulă) și folosește radiația laser pentru interogarea interacțiunii moleculă-nanoparticulă.

Rezultatele studiilor efectuate în prezentul program, folosind nanoparticule de argint, indică necesitatea interacțiunii directe dintre moleculă și nanoparticulă, ca o premiză necesară pentru obținerea efectului SERS. Astfel, transferul de electroni între nivelul Fermi al metalului și orbitalul LUMO al moleculei test adsorbite, reprezintă o condiție necesară în apariția efectului SERS. Originalitatea studiului constă și în demonstrarea faptului că ionii de  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , respectiv  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{Br}^-$  sunt responsabili pentru cuplajul electronic între nanoparticulă și specii anionice, respectiv molecule cationice.

De la descoperirea efectului în anii 1970, au fost propuse mai multe modele, însă în continuare lipsește un model unitar. Activitățile desfășurate de noi, pe parcursul acestui an, arată necesitatea prezenței adatomilor pe suprafața metalică, prin intermediul acestora fiind facilitat transferul electronic între metal și molecula studiată. Atenția a fost îndreptată către substraturi lichide, respectiv soluții coloidale de nanoparticule de argint reduse folosind citratul (cit-AgNPs). Adatomii sunt reprezentați de diferiți anioni, respectiv cationi care formează

poziții active SERS pe suprafața nanoparticulelor metalice. Rezultatele noastre au arătat atât specificitatea măsurătorilor SERS pentru anioni și cationi în funcție de adionul utilizat, cât și selectivitatea analiților dintr-o soluție complexă, apărută ca urmare a afinității diferite a acestora față de suprafața metalică.

Prima etapă a cercetării a constat în sinteza substanței coloidale de argint prin reducerea azotatului de argint ( $\text{AgNO}_3$ ) cu citrat.

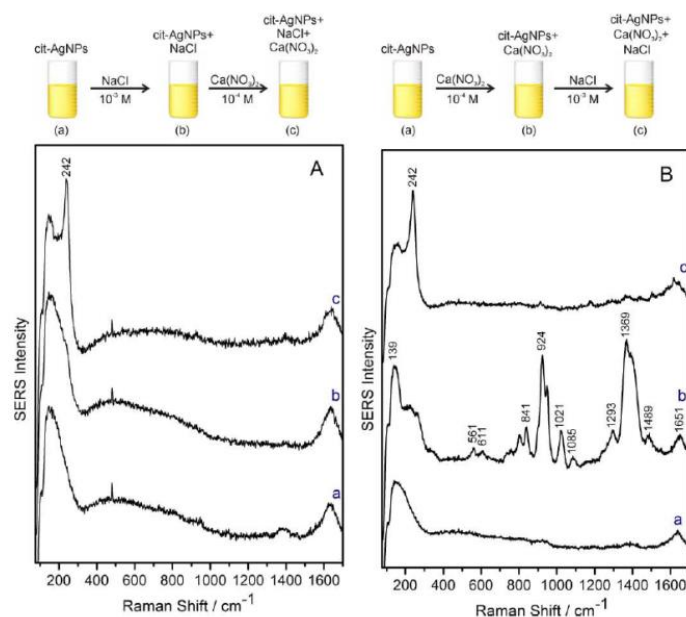
Specificitatea și selectivitatea spectroscopiei SERS au fost evidențiate prin măsurători SERS pe câte 10  $\mu\text{l}$  de amestec cit-AgNPS cu diferite săruri prin intermediul cărora se introduc în soluție ionii necesari activării semnalului SERS (cationul  $\text{Ca}^{2+}$ , respectiv anionul  $\text{Cl}^-$ ). Spectrele au fost achiziționate cu un laser 532 nm și un timp de achiziție de 4 secunde pentru fiecare dintre cele 4 achiziții, a căror mediere a oferit spectrul final.

Crearea pozițiilor active SERS, prin adăugarea în substanța coloidală a cationilor de  $\text{Ca}^{2+}$ , este evidențiată în Figura 2.1A, care prezintă spectrele achiziționate pe soluția coloidală cit-AgNPs (a) și pe amestecuri cit-AgNPs cu  $10^{-3}$  M NaCl (b) și  $10^{-4}$  M  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  (c). Spectrele a și b reprezintă spectre blank, întrucât nu este realizat transferul electronic între nanoparticule și citrat (a), respectiv  $\text{Cl}^-$  (b), iar concentrația celor două substanțe este prea mică pentru apariția semnalului Raman a acestora. Prin adăugarea sării de calciu, cationul formează site-ul activ necesar adsorbției  $\text{Cl}^-$ , ceea ce se observă în spectru prin apariția benzii de vibrație a legăturii Ag-Cl ( $242\text{ cm}^{-1}$ ). Ulterior, s-a obținut în mod secvențial spectrul SERS al citratului și un spectru dominat de o bandă intensă corespunzătoare vibrației Ag-Cl, evidențiind astfel afinitatea diferită a celor doi anioni. În spectrul a din Figura 2.1B este prezentat spectrul achiziționat pe substanța coloidală cit-AgNPs, în care nu se observă vibrații caracteristice citratului întrucât concentrația de citrat din soluție este prea mică pentru detecția Raman a acestuia. Prin introducerea  $10^{-4}$  M  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , în acest coloid, s-a observat amplificarea semnalului citratului, spectru SERS al acestuia fiind prezentat în aceeași figură, în spectrul b.

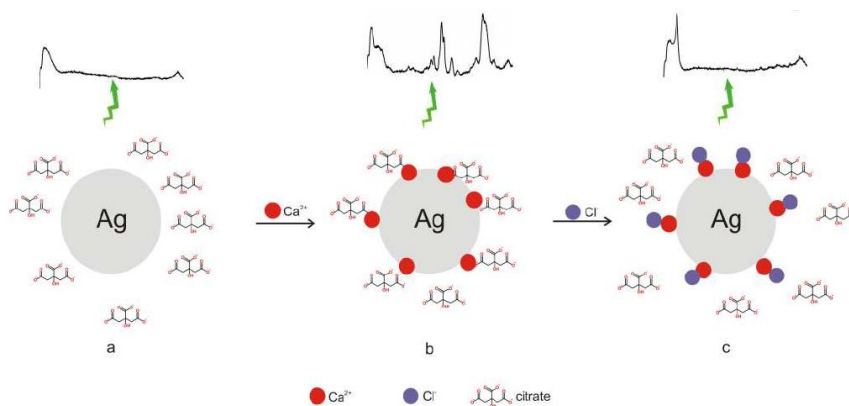


Mai mult, adăugând în continuare aceleași soluții de cit-AgNPs în amestec cu  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $10^{-3}$  M NaCl,  $\text{Cl}^-$  va dezlocui citratul, fapt evidențiat prin dispariția din spectru a benzilor caracteristice citratului și apariția benzii specifice vibrației Ag-Cl ( $242\text{ cm}^{-1}$ ).

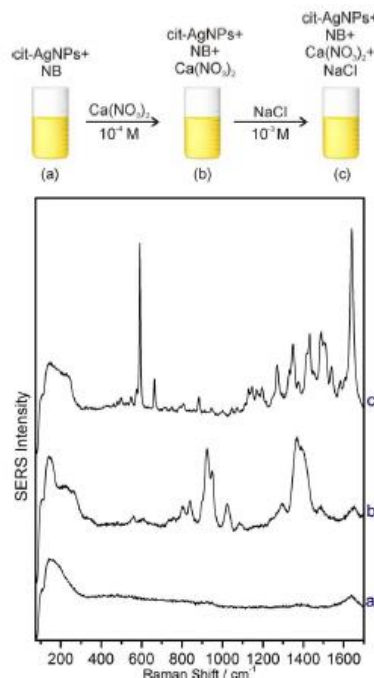
Apariția spectrului SERS al citratului și al clorurii datorită agregării nanoparticulelor a fost exclusă deoarece concentrația sărurilor adăugate a fost prea mică pentru a induce agregarea nanoparticulelor. Soluțiile coloidală cit-AgNP conținând  $10^{-4}$  M  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  și  $10^{-3}$  M NaCl au fost stabile pentru săptămâni. Figura 2.2 exemplifică schematic modelul propus pentru adsorbția competitivă a speciilor anionice: citratului și  $\text{Cl}^-$  pe site-urile active SERS generate de  $\text{Ca}^{2+}$ .



**Figura 2.1.** A. Crearea pozițiilor active SERS prin adăugarea de  $\text{Ca}^{2+}$  și chemisorbția anionilor  $\text{Cl}^-$  (a) spectru Raman al soluției coloidale cit-AgNPs (b) spectrul Raman al amestecului cit-AgNPs/NaCl, (c) banda intensă SERS Ag-Cl, obținută după activarea nanoparticulelor cu  $\text{Ca}^{2+}$ . Spectrele au fost înregistrate prin modificarea aceleiași soluții coloidale, așa cum se arată în imaginea de sus; B. Generarea site-urilor active SERS prin adăugarea de anioni  $\text{Ca}^{2+}$  și chemisorbția competitivă a citratului și a anionilor de  $\text{Cl}^-$ : (a) spectru Raman al soluției coloidale cit-AgNPs, (b) spectrul SERS al citratului obținut după activarea cit-AgNPs cu  $\text{Ca}^{2+}$ , (c) bandă SERS intensă Ag-Cl, obținută după înlocuirea citratului de ioni  $\text{Cl}^-$  pe site-urile active SERS. Spectrele au fost înregistrate prin modificarea aceleiași soluții coloidale, așa cum se arată în imaginea de sus.



**Figura 2.2.** Reprezentarea schematică pentru formarea pozițiilor active SERS specifice și chemisorbția selectivă a citratului și  $\text{Cl}^-$ : (a) cit-AgNPs, (b) site-uri active SERS specifice generate de  $\text{Ca}^{2+}$  și cuplarea moleculelor de citrat cu suprafața de argint, (c) înlocuirea moleculelor de citrat și chemisorbția  $\text{Cl}^-$  pe site-urile active SERS datorită afinității mai mari a ionilor de  $\text{Cl}^-$  pentru suprafața de argint.



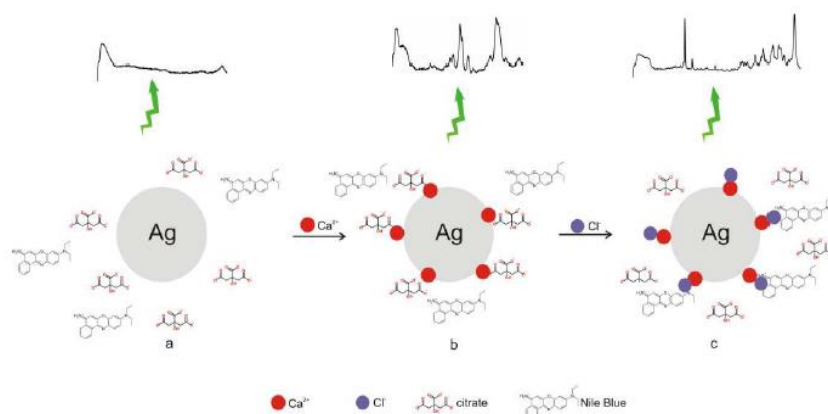
**Figura 2.3.** Activarea SERS specifică a citratului și NB după activarea nanoparticulelor de Ag stabilizate cu citrat și cu ioni de  $\text{Ca}^{2+}$  și  $\text{Cl}^-$ . (a) Spectrul Raman simplu al nanoparticulelor de Ag stabilizate cu citrat (cit-AgNPs), (b) Spectrul SERS al citratului obținut prin adăugarea  $\text{Ca}^{2+}$ , spectrul SERS al NB obținut după adăugarea  $\text{Cl}^-$ .

Urmând acest model, am putut controla ce specii de molecule dintr-un amestec (anioni sau cationi) pot fi adsorbite pe suprafața nanoparticulelor, crescând astfel predicibilitatea în fenomenul SERS. Figura 2.3 prezintă detecția SERS specifică a moleculelor de citrat (specie anionică) și Nile Blue (NB), un colorant cationic, spectre obținute din aceeași soluție.

Într-un amestec de soluție coloidală cit-AgNPs și  $10^{-8}$  M NB, s-a introdus  $10^{-4}$  M  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , ionii  $\text{Ca}^{2+}$  formând poziții active SERS pentru anioni. Citratul este astfel adsorbit pe

suprafața nanoparticulelor și se obține spectrul SERS al citratului (Figura 2.3b). Următorul pas a constat în adăugarea  $10^{-3}$  M NaCl.  $\text{Cl}^-$  din soluție, care conduce la dezlocuirea citratului și legarea NB, astfel încât va fi observat spectrul SERS al colorantului cationic (Figura 2.3c).

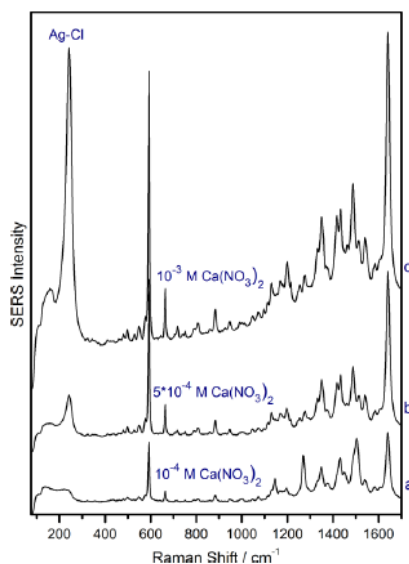
În Figura 2.4 este ilustrat mecanismul de adsorbție selectiv a analitului pe suprafața nanoparticulei. Adăugarea cationilor  $\text{Ca}^{2+}$ , în soluția care conține atât molecule cationice cât și molecule anionice, va duce la formarea pozițiilor active SERS pentru molecula anionică (în cazul nostru citrat, Figura 2.4b). Adăugând  $\text{Cl}^-$ , molecula anionică va fi dezlocuită datorită afinității mari a clorului pentru suprafața nanoparticulei de argint și se vor forma site-uri active SERS pentru molecula cationică (în cazul nostru NB, Figura 4c)



**Figura 2.4.** Reprezentarea grafică a chemisorbției specifice a citratului și NB (a) cit-AgNPs amestecat cu NB, (b) chemisorbția citratului prin adăugarea  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , (c) chemisorbția NB prin adăugarea NaCl.

S-a observat că intensitatea semnalului SERS este direct legată de numărul de poziții active SERS formate. Astfel, cu cât concentrația cationilor este mai mare, cu atât mai multe molecule vor fi adsorbite pe suprafața nanoparticulei metalice. În Figura 2.5 se poate observa amplificarea semnalului SERS al NB odată cu creșterea concentrației de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  din amestecul cit-AgNPS/NB/NaCl/ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ . Numărul pozițiilor active SERS crește odată cu varierea concentrației sării de calciu între  $10^{-4}$  M, și  $10^{-3}$  M deoarece  $\text{Ca}^{2+}$  determină chemisorbția ionilor  $\text{Cl}^-$ . În acest mod, mai multe molecule NB vor fi adsorbite, rezultând un semnal SERS mai intens. De asemenea, se observă o creștere a intensității benzii Ag-Cl este observată, fapt care evidențiază o mărire a numărului pozițiilor active SERS pe suprafața

nanoparticulelor. Pentru concentrația  $10^{-3}$  M  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , se observă agregarea coloidului după  $\sim 10$  minute. Agregarea nu poate totuși explica amplificarea semnalului NB, întrucât acest fenomen este observabil și pentru concentrații mai mici de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , care nu induc agregarea cit-AgNPs.



**Figura 2.5.** Dependența intensității spectrului SERS al NB  $10^{-8}$  M de site-uri SERS active generate de a)  $10^{-3}$  M  $\text{Cl}^-$  și  $10^{-4}$  M  $\text{Ca}^{2+}$  b)  $10^{-3}$  M  $\text{Cl}^-$  și  $5 \cdot 10^{-4}$  M  $\text{Ca}^{2+}$  c)  $10^{-3}$  M  $\text{Cl}^-$  și  $10^{-3}$  M  $\text{Ca}^{2+}$ .

Rezultatele menționate susțin necesitatea formării unor poziții active SERS pe suprafața nanoparticulelor de argint în vederea amplificării semnalului provenit de la analitul de interes. Punctele importante ale acestei metodologii constau în adsorbția competitivă a diferiților anioni în funcție de proprietățile lor fizice și chimice și în formarea de poziții active SERS selective prin adăugarea ionilor de  $\text{Ca}^{2+}$  pentru grupările anionice, respectiv  $\text{Cl}^-$  pentru grupările cationice. Cunoșcând necesitatea unor atomi de tip ‘punte’ între nanoparticulă și molecula de la care așteptăm semnal, s-a reușit realizarea unor spectre SERS selective. Astfel, dintr-o soluție care conține un amestec de molecule se poate regla care tipuri de molecule să fie în contact electronic cu suprafața metalică și să emită semnal SERS. Avantajul principal al acestei tehnici este reprezentat de sensibilitatea și specificitatea ridicată, și de deschiderea oportunităților de detecție a anionilor. Mai mult, această metodă de analiză oferă rezultate rapide și proba nu necesită o prepararea anterioară complicată.

### **3. Mecanisme moleculare responsabile de creșterea tumorală și metastazare. Markeri care prezic metastazarea.**

Înțelegerea mecanismelor moleculare responsabile de creșterea tumorală și metastazare este imperativă pentru medicina individualizată, dar și pentru dezvoltarea de noi tratamente. Analiza moleculară permite dezvoltarea metodelor de diagnostic și tratament, care oferă posibilitatea unei medicini individualizate, până acum irealizabilă. Deși analiza histopatologică a țesutului tumoral rămâne standardul de aur în diagnosticul cancerului, natura invazivă și neplăcută a procedurii îi limitează aplicația clinică. Mai multe echipe de cercetare și-au axat cercetările pe găsirea markerilor care prezic metastazarea, pentru a identifica pacienții cu risc mare de recidivă în urma tratamentelor oncologice. Cu toate acestea, studiile au reliefat un volum imens de date. De exemplu, studiile expresiei genice au reliefat sute de gene exprimate la nivelul celulelor tumorale metastatice. Seturile de gene diferă, și numărul țintelor posibile este atât de mare, încât decizia alegerii unei ținte este foarte dificilă. Mai mult, țintirea unei singure ținte s-a dovedit deseori a fi insuficientă.

Noi strategii sunt testate pentru a găsi molecule reprezentative, biomarkeri, care să prezică răspunsul tumoral. Din ce în ce mai multe dovezi susțin faptul că miARN-urile ar putea fi principalii responsabili în controlul diferitelor procese biologice, prin modularea expresiei genice. MicroARN (miARN) sunt o clasă înalt conservată de 19-23 de nucleotide ARN. miARN modulează expresia genică la nivel post-transcripțional legând ținta lor 3'-UTR și rezultând în clivajul miARN sau inhibarea sintezei proteice. Uneori, expresia miR sau funcția sunt deficitare în cancer, relevând dovezi adiționale pentru rolul lor ca oncogene și cunoașterea lor ca oncomiARN. Diferite patologii tumorale, arată o semnătură unică a miARN, dar valoarea prognostică a miARN, în cancerele metastatice, a fost puțin investigată. Din cauza că numărul miARN cunoscute este semnificativ mai mic decât acela al genelor (circa 1400 miARN față de 25.000 gene), analiza miARN pare a fi o abordare mai bună în identificarea markerilor celulelor

metastatice, ceea ce ar avantaja diagnosticul, estimarea prognosticului, cât și dezvoltarea de noi terapii. Țintind un miARN, mai multe căi moleculare pot fi modulate (o țintă, efecte multiple). Acesta pare un excelent punct de plecare pentru dezvoltarea terapiilor noi pentru pacienții cu metastaze. De exemplu, s-a demonstrat că există o semnătură distinctă între colonul normal și cancerul de colon și că expresia înaltă a miR-21 este asociată cu un prognostic infaust. Numeroase studii au demonstrat valoarea potențială a miARN ca un factor de prognostic, biomarker predictiv în cancer. Mai mult, unul dintre obiectivele cercetării în oncologie este căutarea unor metode neinvazive pentru diagnosticul și managementul cancerului.

Unul dintre avantajele principale ale utilizării miARN pentru amprentarea tumorilor este înalta sa stabilitate în plasmă și ser. De aceea, izolarea exozomilor circulanți pentru profilul miARN ar putea duce la dezvoltarea de noi metode diagnostice, de evaluare a prognosticului și de urmărire a pacienților. Se presupune că stabilitatea înaltă a microARN în sistemul circulator se datorează încorporării sale în microparticule și exozomi. Exozomii sunt vezicule mici (30-100 nm), formați prin endocitarea membranelor plasmatică și apoi eliberați în mediul extracelular în urma fuziunii corpurilor multiveziculari din membrana plasmatică. Se presupune că celulele secretă exozomi care conțin microARN pentru a comunica cu alte celule la distanță. Acest mecanism, asemănător cu cel hormonal, pentru comunicarea independentă a microARN încorporați în exozomi, este tot mai mult recunoscut ca un nou mod, independent de interacțiune celulă-celulă. În cancer, s-a demonstrat că exozomii tumorali promovează progresia tumorală prin evitarea sistemului imun, prin hrănirea căilor autocrine, stimularea angiogenezei, celulelor stromale, și remodelarea matricii extracelulare. Mai mult, a fost propus un alt mecanism prin care exozomii promovează progresia tumorală: interferând cu chimioterapia. Studiile au arătat că microARN din exozomi sunt complet funcționale, de exemplu, celulele tumorale din glioblastom eliberează exozomi conținând mARN și microARN, care sunt transportate în microvascularizația endotelială, după internalizare. Aceste rezultate sugerează că exozomii sunt

utilizați ca o modalitate de terapie genică în organism, dar și că este posibilă detectarea non-invazivă a microARN în tumorile cerebrale, în scop diagnostic și terapeutic. Alte studii au obținut rezultate similare în cancerul ovarian, pancreatic, hepatic și colorectal. Un studiu arată că macrofagele asociate tumorii modulează invazivitatea celulelor tumorale mamare prin transportul miARN oncogenice prin intermediul exozomilor, oferind astfel dovezi în susținerea mecanismelor de interacțiune dintre macrofage și celulele tumorale mamare. Alt studiu a identificat 11 miARN circulante la pacienții cu cancer de prostată metastazat comparativ cu cei fără metastaze; dintre acestea, miR-141 și miR-375 au fost confirmate folosind exozomii izolați din serul pacienților cu boală recurentă sau non-recurentă, după prostatectomie radicală. A fost identificat un set de mARN și miARN pro-angiogenice în microveziculele eliberate de celulele tumorale renale, care induc angieneză și formarea nișei premetastatice pulmonare. Alte dovezi ale importanței exozomilor cu miARN în dezvoltarea metastazelor la distanță au fost obținute în cazul melanomului; s-a demonstrat că exozomii ajung în nodulii limfatici și afectează recrutarea celulară, remodelarea matricii extracelulare și proliferarea vasculară, în acest fel facilitând metastazarea. În general, aceste studii subliniază importanța exozomilor circulanți și miARN, transportați în creșterea și metastazarea tumorală.

Micromediul tumoral e foarte important în progresia cancerului și diseminarea tumorală, ca de exemplu în cancerul mamar, prostatic, vezical sau hepatic primar. Chiar dacă sunt puține date în literatură privind rolurile miARN, găsite în exozomii secretați de tumora primară, cu scopul pregătirii nișei metastatice, credem că interacțiunea dintre speciile miARN și micromediul tumoral este detrimentală pentru formarea metastazelor. Caracterizarea patologică a acestui micromediu este de maximă importanță pentru managementul clinic al pacienților diagnosticați cu cancer colorectal, dar cu toate acestea, puține date au fost publicate despre evenimentele epigenetice ce apar în timpul progresiei tumorale și în evoluția reacției desmoplazice a țesuturilor de vecinătate. Țesutul fibros pare a contribui la progresia cancerului.

Un model foarte bun pentru studiul acestui fenomen biologic este cancerul de colon. Arhitectura țesutului local se modifică și membrana bazală se îngroașă, consecință directă a fibrozei. Metaloproteinazele matriceale, induc tranziția epitelului către un fenotip miofibroblastic, proces cunoscut ca tranziție epitelio-mezenchimală (TEM) care a fost deja raportată în oncologia gastrointestinală.

O foarte interesantă interacțiune a fost descrisă între celula tumorală și fibroblaștii asociați tumorali (CAFs), datorită unor caracteristici deținute de acești fibroblaști. În primul rând, aceștia au abilitatea de a se transforma spontan după îndepărtarea din condiții *in vivo* și creșterea *in vitro* pentru o perioadă lungă. În al doilea rând și poate punctul cheie, pentru diseminarea la distanță, este faptul că CAFs susțin dezvoltarea tumorilor metastatice sau secundare, nu doar locoregional, dar și în organe la distanță. Aceasta caracteristică este cunoscută ca ‘the seed and soil theory’ a carcinogenezei. Simbioza dintre CAF și o celulă epitelială tumorală duce la diferite evenimente epigenetice, coordonate de semnalizări celulă-celulă prin diferite citokine sau chiar structuri veziculare – exozomii, care transportă microARN de la un tip celular la altul. Celula tumorală poate dobândi caracteristici proprii celulelor stem după ce își pierde polaritatea apico-bazală, reproducând exact tranziția epitelio-mezenchimală găsită în embriogeneză și vindecarea plăgilor. Aceasta afirmație este confirmată de diferite citokine descrise inițial în embriologie și recent în oncologie, cum ar fi chemokina CXCL12 sau SDF-1 alpha și co-receptorul CXCR4, cuplare care relevă anumite aspecte imunologice ale metastazării cancerului de sân, în creier, plămân și corpi vertebrali. CXCL12 este produs de celule fibroblast-like și interacționează cu CXCR4 la nivelul membranei celulare. Odată ce aceasta axă este activată, celula tumorală este mai susceptibilă să interacționeze cu fibroblastul activat. În acest proiect, scopul nostru este să identificăm miARN transportate prin exozomi în serul pacienților cu cancer de colon. Ipoteza noastră susține un rol modulator al miARN la nivelul micromediului tumoral, local, la locul tumorii primare, dar și la distanță, la locul de



formare al metastazelor.

Înțelegând mecanismele moleculare și genetice prin care un carcinom in situ este capabil să invadeze membrana bazală, să crească și chiar să disemineze în organe la distanță, să evite sistemul imun și chimioterapia, putem dezvolta tratamente inovative, aplicabile în cancerul colorectal. Evenimentele epigenetice care se corelează cu un feedback pozitiv între o celulă tumorală și țesutul fibros de vecinătate ar putea deține răspunsul multor întrebări privind detecția rapidă și îmbunătățirea managementului cancerului de colon.

**Ipoteza** noastră principală este ca tumorile primare eliberează miARN prin exozomi transportați în sângele periferic, ceea ce facilitează formarea nișei metastatice. Această ipoteză a fost investigată prin următoarele **obiective specifice**:

**Obiectiv specific 1:** Cuatificarea expresiei speciilor de miARN în exozomii din serul pacienților cu leucemie limfatica cronica si cu Sindrom Richter.

**Ipoteza:** Exozomii pacienților cu metastaze conțin specii de miARN (numite metastamiR) care pregatesc nișa metastatică la distanța. Prin compararea exozomilor din serul pacienților cu LLC față de cei cu sindrom Richter, vom identifica miARN posibil implicați în dezvoltarea nișei metastatice.

**Sub-obiectiv 1a.** Izolarea exozomilor din serul pacienților.

**Sub-obiectiv 1b.** Identificarea diferențelor dintre expresia miARN din exozomii pacienților cu si fara sindrom Richter

**Obiectiv specific 2:** Caracterizarea efectelor metastamiR la nivelul invaziei celulare și metastazării.

**Ipoteza:** MetastamiR sunt supraexprimate în exozomii pacienților cu metastaze la distanță pentru a iniția și susține dezvoltarea nișei metastatice.

**Sub-obiectiv 2a.** Evaluarea efectului metamicroR în invazia celulară și metastazare in vitro. Rezultatele cercetărilor în acest domeniu a fost deja publicate.

Cercetările pe tematica proiectului au fost finalizate prin 5 lucrări apărute, alte 5 prezentate la conferințe internaționale.

1. *Use of flow cytometry in the phenotypic diagnosis of Hodgkin's lymphoma.*

Grewal RK, Chetty M, Abayomi EA, **Tomuleasa C**, Fromm JR.

Cytometry B Clin Cytom. 2018 Oct 22.

doi: 10.1002/cyto.b.21724. (Q1 – Pathology and Forensic Medicine).

2. *Castleman's disease in the HIV-endemic setting.*

Mahroug ER, Sher-Locketz C, Desmirean MS, Abayomi EA, **Tomuleasa C**, Grewal R.

Cancer Manag Res. 2018 Oct 12;10:4553-4563.

doi: 10.2147/CMAR.S175648. (Q1 – Oncology)

3. *Exosome-carried microRNA-based signature as a cellular trigger for the evolution of chronic lymphocytic leukemia into Richter syndrome.*

Jurj A, **Pop L**, Petrushev B, Pasca S, **Dima D**, Frinc I, Deak D, Desmirean M, Trifa A, Fetica B, Gafencu G, Selicean S, **Moisoiu V**, Micu WT, Berce C, Sacu A, **Moldovan A**, Colita A, Bumbea H, Tanase A, Dascalescu A, Zdrenghia M, **Stiuftuc R**, **Leopold N**, **Tetean R**, **Burzo E**, **Tomuleasa C**, **Berindan-Neagoe I**.

Crit Rev Clin Lab Sci. 2018 Sep 21:1-15.

doi: 10.1080/10408363.2018.1499707. (Q1 – Genetics and Molecular Biology)

4. *Next-generation sequencing-based characterization of the invasion by anatomical contiguity in a primary osseous diffuse large B-cell lymphoma. Correlation between the genetic profile of the malignancy and the clinical outcome of the patient.*

Florin Zaharie, **Laura-Ancuta Pop**, Bobe Petrushev, Ancuta Jurj, Mihai-Stefan Muresan, Dan Eniu, Bogdan Fetica, Bozhidar Petkov, Sergiu Pasca, Doina Piciu, Ioana Rus, Dalma Deak, **Delia Dima**, Minodora-Silvia Desmirean, **Ciprian Tomuleasa**, **Ioana Berindan-Neagoe**

Histology and Histopathology Nov 23:18067. doi: 10.14670/HH-18-067 (2018).

5. *Specific and selective SERS active sites generation on silver nanoparticles by cationic and anionic adatoms,*

A. Stefanu, S.D. Iancu, **V. Moisoiu, N. Leopold,**

Romanian Reports on Physics Rom. Rep. Phys. **70**, 509 (2018)

6. *Magnetic properties of  $Sr_2Fe_{1-x}Ni_xMoO_6$  perovskites*

**E. Burzo, G. Souca**

Materials Today: Proceedings, (2019)

7. *Complex physical phenomena in perovskite transition metal oxides*

**Iosif G. Deac**

Materials Today: Proceedings, (2019)

8. *XPS on  $Nd_{0.6-x}Bi_xSr_{0.4}MnO_3$  nano-powders*

**R. Bortnic, G. Souca, R. Lucacel Ciceo, F. Goga, R. Stiufiuc, R. Dudric, R. Tetean**

Applied Surface Science, proceeding ICPAM 12 -, în curs de redactare -termen 20.12.2018  
(2019)

9. *Synergistical use of electrostatic and hydrophobic interactions for the synthesis of a new class of multifunctional nanohybrids: plasmonic magneto-liposomes*

**Ș. Nițică, G. Știufiuc, A. Moldovan, C. Iacoviță, V. Toma, D.R.T. Zahn, R. Tetean, I.**

**Neagoe, C.M. Lucaciu, R. Știufiuc**

Small, in curs de redactare-va fi trimisa in decembrie (2019)

## Referințe

- [1] V. Golosky, M. Tovar, U. Hoffman, I. Mirebeau, F. Fauth, D. A. Kurdyakov, Yu. A. Kumzerov, JETP Letters, 83, 298 (2006)
- [2] W. C. Hamilton, Phys. Rev. 110, 1050 (1958)
- [3] D. Levy, R. Guntetto, A. Hoser, Phys. Chem. Minerals, 39, 169 (2012)

- [4] S. Klotz, G. Steink-Neumann, T. Strassle, J. Philippe, T. Hansen, M. J. Wenzel, *Phys. Rev. B* 77, 012411 (2008)
- [5] J. Hatings, L. Corliss, *Phys. Rev.* 104, 328 (1956)
- [6] R. Dronskowski, *Adv. Funct. Mater.* 11, 27 (2001)
- [7] J. M. D. Cooney, *Phys. Rev. Lett.* 27, 1140 (1971)
- [8] M. P. Morales, C. J. Serna, F. Boedker, S. Morup, *J. Phys.: Condens. Matter*, 9, 5461 (1997)
- [9] C. J. Serna, F. Bodker, S. Morup, M. P. Morales, P. Sandiumenga, S. Veintemillas-Verdagner, *Solid State Comm.* 118, 437 (2001)
- [10] A. Bee, R. Massart, S. Neveu, *J. Magn. Magn. Mater.* 149, 6 (1995)
- [11] T. Yang, C. Shen, Z. Li, H. Zhang, C. Xiao, S. Chen. Z. Xu, D. Shi, J. Li, H. Gao, *J. Phys. Chem. B* 109, 23233 (2005)
- [12] J. Sun, S. Zhou, P. Hou, Y. Yang. J. Weng, X. Li, M. Li, *J. Biom. Mat. Res. A*, 333 (2006)