

UNIVERSITATEA DIN BUCUREȘTI Facultatea de Fizică Școala Doctorală de Fizică



Ágota SIMON

### Comportarea în diferite condiții de gravitație a soluțiilor de fenotiazine expuse la radiație laser

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător științific Prof. Dr. Mihail-Lucian PASCU

# Abrevieri

CMC	Critical Micelle Concentration
CPZ	Chlorpromazine
CW	Continuous Waveform
DLR	German Aerospace Center (Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt)
DropTES	Drop Tower Experiment Series
ESA	European Space Agency
ESTEC	European Space Research and Technology Centre
FWHM	Full Width Half Maximum
ISS	International Space Station
LDC	Large Diameter Centrifuge
LEO	Low Earth Orbit
LIF	Laser Induced Fluorescence
MDR	Multiple Drug Resistance
PMZ	Promethazine
PZ	Promazine
SYT	Spin Your Thesis!
TLC	Thin Layer Chromatography
ΤZ	Thioridazine
UNOOSA	United Nations Office for Outer Space Affairs
ZARM	Center of Applied Space Technology and Microgravity
	(Zentrum für Angewandte Raumfahrttechnologie und Mikrogravitation)

# Cuprins

1	ntroducere	<b>2</b>
	.1 Motivație	2
	.2 Objective	3
	.3 Concept	4
<b>2</b>	Soluții de fenotiazine în condiții de gravitație terestră	<b>5</b>
	2.1 Proprietățile fizico-chimice și spectrale ale soluțiilor de fenotiazine iradiate laser	5
	<ul> <li>8.2 Stabilitatea soluțiilor de fenotiazine pre- și post-iradiere laser</li></ul>	$\begin{array}{c} 10\\ 15 \end{array}$
3	Soluții de fenotiazine în condiții de hipergravitație	20
	8.1 Influența hipergravitației asupra proprietăților fizico-chimice și spectrale ale soluțiilor de fenoti- azine iradiate laser	20
	3.2 Influența hipergravitației asupra suprafețelor permeabile impregnate cu picături de	
	fenotiazine iradiate laser	24
	3.3 Influența hipergravitației asupra interacției picăturilor de fenotiazine iradiate laser cu suprafețe permeabile și impermeabile	30
4	Solutii de fenotiazine în conditii de microgravitatie	42
	.1 Înfluența microgravitației asupra interacției radiației laser cu picături de fenotiazine	42
	.2 Influența microgravitației asupra interacției picăturilor de fenotiazine iradiate laser cu suprafețe impermeabile	47
5	Concluzii	54
Bi	liografie	58
$\mathbf{A}$	Contribuții proprii	61
	A.1 Lucrări publicate în reviste	61
	A.2 Lucrări pregătite spre publicare	61
	A.3 Lucrări prezentate la conferințe	62
	A.4 Capitole de carte	63
	A.5 Proiecte	63
	A.6 Stagii	63
	A.7 Școli	64
	A.8 Burse, granturi și premii	64

# Capitolul 1

## Introducere

Teza este dedicată studiilor privind comportarea soluțiilor de fenotiazine în condiții gravitaționale terestre, hipergravitație și microgravitație, această secțiune trecând în revistă informațiile din literatura de specialitate referitoare la tematica lucrării. Prin urmare, capitolul 1 prezintă: (i) motivația, (ii) obiectivele și (iii) conceptul care stau la baza tezei, conținând informații raportate în articolul review Simon et al., Stability of Antimicrobial Drug Molecules in Different Gravitational and Radiation Conditions in View of Applications during Outer Space Missions, Molecules 26(8), 2221, 2021 [1] și în articolul Nistorescu et al., Laser-Irradiated Chlorpromazine as a Potent Anti-Biofilm Agent for Coating of Biomedical Devices, Coatings 10(12), 1230, 2020 [2].

### 1.1 Motivație

Mai mult de sase decenii au trecut de când primul om a fost lansat în spațiu, marcând astfel începutul explorării umane a cosmosului. Dorința profund înrădăcinată a umanității de a descoperi și depăși limitele impuse de atractia gravitatională care actionează pe Pământ a fost sporită de aterizarea omului pe Lună. Progrese remarcabile au fost realizate de la zborurile suborbitale la cele orbitale, precum și prin extinderea treptată a duratei și complexității misiunilor, ajungându-se de la simpla supraviețuire la efectuarea de cercetări stiințifice [3]. În prezent, International Space Station (ISS) reprezintă cel mai avansat laborator orbital locuit permanent de astronauti care este folosit pentru dezvoltări stiințifice și tehnice de ultimă generație. După misiunile pe orbita terestră joasă (LEO), există inițiative pentru cercetări de lungă durată ale spațiului cosmic îndepărtat, care să faciliteze, în primul rând, explorarea Lunii si a planetei Marte [4]. În decursul celor peste 20 de ani de functionare neîntreruptă, ISS-ul reprezintă un model exemplar de spatiu izolat dincolo de orice alt habitat uman [5]. Habitatia umană în spații închise, fie permanentă, fie temporară, implică convietuirea cu microorganisme. În special acolo unde aerul, apa, alimentele și deșeurile sunt reciclate, dezvoltarea agenților patogeni poate prezenta un risc major [6]. Este recunoscut că în ciuda aplicării celor mai riguroase protocoale de carantină pre-zbor, în timpul misiunilor spațiale îndelungate, interiorul navei va fi inevitabil contaminat de o varietate de specii de microbi. S-a constatat faptul că zborul spațial induce modificări în răspunsul imunitar [6], determinând o vulnerabilitate crescută a membrilor echipajului în fata microorganismelor oportuniste. Infectiile microbiene pot avea consecințe grave, punând în pericol siguranța, sănătatea și performanța astronauților, si pot de asemenea avea impact asupra fiabilității navei spațiale, ceea ce ar putea compromite misiunea.

Diferențele între misiunile exploratorii cu echipaj pe termen lung și cele de pe LEO includ [7]: (i) durată extinsă a expedițiilor (e.g. misiunile pe Marte durează câțiva ani), (ii) expunere prelungită la mediul cosmic, (iii) lipsa posibilității de aprovizionare pe parcursul misiunilor, (iv) absența asistenței medicale și/sau farmaceutice de pe Pământ (utilizarea exclusivă a telemedicinei) și (v) capacitate limitată sau inexistentă de evacuare de urgență a astronauților bolnavi. Aceste diferențe implică necesitatea unor cercetări riguroase în domeniul farmacologiei spațiale înainte de lansarea unor astfel de misiuni, medicamentele eficiente cu durată de valabilitate adecvată (i.e. termen de expirare) jucând un rol esențial. Pentru a evalua dacă mediul cosmic afectează farmaceuticele, sunt necesare investigații detaliate asupra modului în care organismul acționează asupra acestora (farmacocinetică), cum acestea acționează asupra organismului (farmacodinamică) și cât de stabile sunt în timp. Plecând de la acestea, lucrarea de doctorat se concentrează asupra stabilității medicamentelor în condiții simulate de gravitație extraterestrială.

### 1.2 Objective

Teza de doctorat contribuie la eforturile de cercetare care sunt de actualitate, privind diversificarea listelor de medicamente care pot fi utilizate fără riscuri în timpul misiunilor spațiale de durată mai lungă. Lucrarea face parte dintr-un studiu mai amplu care are ca scop studierea efectelor diferitelor condiții gravitaționale asupra comportamentului unor soluții de medicamente (în volum de ordinul mililitrilor) și a produșilor de reacție ca urmare a expunerii la radiație laser. O etapă ulterioară a constat din investigarea interacției picăturilor de medicamente (în volum de ordinul microlitrilor) iradiate cu suprafețe țintă de interes biomedical și tehnologic pentru viitoarele misiuni spațiale.

Obiectivele lucrării cuprind următoarele:

- studierea în condiții gravitaționale terestre a schimbărilor proprietăților fizico-chimice și spectrale ale soluțiilor de fenotiazine pe parcursul procesului de iradiere cu fascicul laser UV,
- compararea proprietăților fizico-chimice și spectrale ale soluțiilor de fenotiazine în funcție de tipul soluției (neiradiat vs iradiat),
- studierea în condiții gravitaționale terestre a stabilității în timp a soluțiilor de fenotiazine sub influența diverșilor factori de mediu de depozitare (condiții de iluminare și temperatură), prin urmărirea schimbărilor spectrale,
- investigarea în condiții gravitaționale terestre a proprietăților de umectare ale picăturilor de fenotiazine în contact cu suprafețe țintă hidrofile și hidrofobe, prin determinarea unghiurilor de contact și a diametrelor de umectare,
- dezvoltarea unui montaj experimental dedicat studiilor microfluidice în condiții de hipergravitație,
- studierea în condiții de hipergravitație a proprietăților fizico-chimice și spectrale ale soluțiilor de fenotiazine neiradiate și iradiate,
- compararea proprietăților fizico-chimice și spectrale ale soluțiilor de fenotiazine în funcție de nivelul de gravitație (1 g vs 20 g),
- investigarea microscopică a suprafețelor permeabile impregnate cu picături de fenotiazine neiradiate și iradiate, și supuse la condiții de hipergravitație,
- explorarea efectelor diferitelor niveluri de hipergravitație asupra formei picăturilor suspendate,
- explorarea efectelor diferitelor niveluri de hipergravitație asupra volumului la care picăturile suspendate se detașează,
- explorarea efectului diferitelor niveluri de hipergravitație asupra formei și oscilațiilor picăturilor sesile,
- investigarea în condiții de hipergravitație a proprietăților de umectare ale picăturilor de fenotiazine în contact cu suprafețe țintă permeabile și impermeabile, prin determinarea unghiurilor de contact și a diametrelor de umectare,
- compararea proprietăților de umectare ale picăturilor în funcție de tipul soluției (solvent, soluție neiradiată și iradiată) și de nivelul de gravitație (1 g, 2 g, 5 g, 10 g și 20 g),
- dezvoltarea unui montaj experimental dedicat investigațiilor optofluidice și microfluidice în condiții de microgravitație,
- explorarea efectului microgravitației asupra formei picăturilor suspendate,
- studierea în condiții de microgravitație a procesului de iradiere cu fascicul laser UV a picăturilor de fenotiazine suspendate, prin urmărirea fluorescenței induse laser,
- explorarea efectului microgravitației asupra formei picăturilor sesile,
- investigarea în condiții de microgravitație a proprietăților de umectare ale picăturilor de fenotiazine în contact cu suprafața țintă impermeabilă, prin determinarea unghiurilor de contact și a diametrelor de umectare,
- compararea proprietăților de umectare ale picăturilor în funcție de tipul soluției (solvent, soluție neiradiată și iradiată) și de nivelul de gravitație (1 g vs 10<sup>-6</sup> g).

### 1.3 Concept

Rezultatele din cadrul tezei de doctorat cuprind contribuții originale în urma efectuării experimentelor în laboratorul de Spectroscopie și Optică Laseri al Institutului Național pentru Fizica Laserilor, Plasmei și Radiației, în colaborare cu Centrul de Tehnologii Avansate cu Laser. Lucrarea conține, de asemenea, studii inovatoare și complexe realizate în condiții de hipergravitație și microgravitație în cadrul proiectelor internaționale propuse și câștigate de doctorand sub coordonarea conducătorului științific, experimentele fiind realizate la facilitățile: (i) Large Diameter Centrifuge (LDC), European Space Research and Technology Centre (ESTEC), sub egida European Space Agency (ESA) și (ii) Bremen Drop Tower, Center of Applied Space Technology and Microgravity (ZARM), sub egida United Nations Office for Outer Space Affairs (UNOOSA), co-finanțat de German Aerospace Center (DLR).

Teza este structurată în 6 capitole, dar prezentul rezumat nu conține capitolul "Aspecte teoretice" întrucât acesta nu se referă la date originile. Astfel, rezumatul tezei este structurat în 5 capitole după cum urmează:

- Capitolul 1 face o trecere în revistă a informațiilor raportate în literatura de specialitate referitoare la tematica tezei, prezentând motivația și obiectivele studiilor care stau la baza lucrării de doctorat.
- Capitolul 2 se concentrează pe studii efectuate în condiții gravitaționale terestre privind fototransformarea soluțiilor de fenotiazine. Sunt prezentate efectele procesului de expunere laser asupra structurilor moleculare evidențiate prin schimbările proprietăților fizico-chimice și spectrale. Este investigată stabilitatea în timp sub influența diferiților factori de mediu de stocare a soluțiilor fenotiazinice, înainte și după iradiere. Monitorizarea probelor în volum de ordinul mililitrilor este continuată cu experimente privind evoluția proprietăților de umectare ale picăturilor cu volum de ordinul microlitrilor, conținând aceleași soluții de fenotiazine, la interacția cu diferite suprafețe țintă de interes biomedical și relevante în viitoarele misiuni spațiale.
- Capitolul 3 se axează pe cercetări inovatoare realizate în condiții de hipergravitație privind comportamentul soluțiilor de fenotiazine. Sunt descrise efectele hipergravitației asupra proprietăților fizico-chimice și spectrale ale soluțiilor neexpuse și expuse la radiație laser. Suprafețe permeabile sunt impregnate cu picături care conțin soluțiile respective și supuse la accelerație gravitațională ridicată, fiind ulterior analizate prin micro-scopie de fluorescență. Este, de asemenea, studiat impactul hipergravitației asupra evoluției proprietăților de umectare ale picăturilor fenotiazinice, neiradiate și iradiate laser, în contact cu suprafețe țintă permeabile și impermeabile.
- Capitolul 4 se bazează pe rezultate obținute în cadrul experimentelor efectuate în condiții de microgravitație. Sunt prezentate efectele microgravitației asupra expunerii în timp real la fascicul laser a picăturilor suspendate care conțin soluții de fenotiazine și fototransformării acestora, măsurând fluorescența indusă laser. Apoi, este investigat impactul accelerației gravitaționale scăzute asupra evoluției proprietăților de umectare ale picăturilor sesile pe suprafețe țintă impermeabile.
- Capitolul 5 sintetizează concluziile și elementele de noutate, cu referire la perspectivele abordării de noi cercetări în domeniu.

Capitolele 2-5 ale rezumatului tezei conțin rezultatele originale, la finalul lucrării fiind anexate *Contribuțiile proprii*, care prezintă diseminarea rezultatelor sub formă de articole publicate în reviste de specialitate, capitole de carte elaborate la edituri internaționale și participări la conferințe naționale și internaționale. De asemenea, sunt listate proiectele propuse și câștigate de doctorand sub coordonarea conducătorului științific, pe lângă propunerile care constituie baza unui proiect pentru cercetări pe ISS.

# Capitolul 2

# Soluții de fenotiazine în condiții de gravitație terestră

Expunerea soluțiilor de fenotiazine la radiație laser UV conduce la modificarea structurilor la nivel molecular și la formarea de noi fotoproduși cu efecte antimicrobiene îmbunătățite. Așadar, capitolul 2 prezintă informații despre efectele procesului de iradiere asupra: (i) schimbărilor proprietăților fizico-chimice și spectrale ale soluțiilor fenotiazinice în volum de ordinul mililitrilor, (ii) stabilității în timp a acestor soluții când se află sub influența diferiților factori de mediu de stocare și (iii) proprietăților de umectare ale picăturilor cu volum microlitric conținând aceleași soluții de fenotiazine în contact cu diferite suprafețe țintă de interes biomedical și relevante în viitoarele misiuni spațiale. Trebuie menționat faptul că în acest capitol sunt raportate investigații desfășurate în condiții de gravitație terestră.

### 2.1 Proprietățile fizico-chimice și spectrale ale soluțiilor de fenotiazine iradiate laser

În acest subcapitol sunt evidențiate modificările proprietăților fizico-chimice și spectrale suferite în urma expunerii soluțiilor de fenotiazine la fascicul laser UV. Degradarea compușilor parentali și formarea noilor fotoproduși au fost urmărite și analizate prin măsurarea pH-ului, spectroscopia de absorbție UV-Vis-NIR și cromatografia în strat subțire (TLC). Datele obținute oferă informații despre: (i) scăderea exponențială a pH-ului, (ii) deplasările hipsocromice și hipercromice ale maximelor de absorbție în spectrul UV-Vis-NIR, (iii) modificările benzilor în spectrul NIR și (iv) separarea fotoprodușilor generați. Rezultatele din această secțiune reprezintă doar investigațiile efectuate în condiții de gravitație terestră raportate în articolele Simon et al., Photoactive chlorpromazine and promazine drugs exposed to hypergravity conditions after interaction with UV laser radiation, Acta Astronaut. 189, 260-268, 2021 [8] și Simon et al., Stability Studies of UV Laser Irradiated Promethazine and Thioridazine after Exposure to Hypergravity Conditions, Molecules 27(5), 1728, 2022 [9].

### Procedura experimentală

Soluțiile fenotiazinice studiate au avut ca soluți clorpromazina (CPZ), promazina (PZ), prometazina (PMZ) și tioridazina (TZ), sub formă de clorhidrați cu puritate  $\geq 98\%$  (Sigma-Aldrich). Apa ultrapură a fost utilizată drept solvent, fiind selectată datorită biocompatibilității sale. Probele au fost preparate înainte de expunere la radiație laser la concentrațiile de 2 mg/ml și 20 mg/ml. După iradiere, eșantioanele au fost plasate în tuburi de centrifugă conice negre din polipropilenă (Rotilabo), concepute pentru manipularea probelor fotosensibile, și depozitate la 4 °C pentru a le proteja de fluctuațiile de temperatură.

Soluțiile medicamentoase au fost supuse unei iradieri la 266 nm obținută cu un laser pulsat de Nd:YAG (Surelite II, Continuum). Durata maximă a pulsului laser la semi-înălțime (FWHM) a fost 6 ns, la o energie medie pe puls de 6,5 mJ și la o rată de repetiție de 10 Hz. Un volum de 2 ml din fiecare tip de medicament (CPZ, PZ, PMZ și TZ) și concentrație (2 mg/ml și 20 mg/ml) a fost expus succesiv la radiație laser (timpi de iradiere: 1 min, 15 min, 30 min, 1 h, 2 h și 4 h) într-o cuvă de cuarț etanșă, păstrând o probă neiradiată din fiecare soluție ca referință, ajungând astfel la un număr total de 56 de probe. Fiecare probă a fost amestecată la 600 rpm în timpul procesului de iradiere folosind un agitator magnetic (AREC.X, VELP Scientifica) pentru a omogeniza în permanență soluția, deoarece în studiile anterioare s-a observat formarea de precipitați [10]. Configurația experimentală de expunere a eșantioanelor la fascicul laser este ilustrată schematic în figura 2.1.1. Este de menționat faptul că în cazul în care nu se specifică altfel în următoarele subcapitole și capitole, protocolul de iradiere al probelor rămâne același ca în studiul raportat în această secțiune.



Laser Nd:YAG λ = 266 nm Energimetru Agitator magnetic

Figura 2.1.1: Reprezentarea grafică a procesului de expunere la radiație laser UV a soluțiilor de fenotiazine în volum de ordinul mililitrilor. N.B.: Drumul optic al fasciculului laser prin cuvă este de 1 cm. Fluența este de  $17,1 \cdot 10^{-3}$  J/cm<sup>2</sup>, având în vedere aria secțiunii transversale de 0,38 cm<sup>2</sup> a spotului fasciculului pe cuvă.

Criteriul de selecție pentru sursa laser se bazează pe ideea că expunerea la un fascicul de lumină de energie mare a farmaceuticelor cu activitate antimicrobiană redusă reprezintă o soluție alternativă pentru obținerea de agenți antimicrobieni îmbunătățiți față de compusul neiradiat [10]. Lungimea de undă a laserului a fost aleasă în UV, la 266 nm, deoarece în jurul acesteia, medicamentele investigate absorb puternic radiația electromagnetică. Parametrii de iradiere au fost selectați conform studiilor anterioare care atestă activitatea sporită a fotoprodușilor fenotiazinici asupra bacteriilor rezistente prin comparație cu antibioticele cunoscute [11]. Impactul factorilor de mediu (e.g. temperatura de stocare și condițiile de iluminare), precum și al radiației laser asupra stabilității probelor, a fost studiat în condiții gravitaționale terestre în [12, 13] și prezentat în detaliu în subcapitolul 2.2.

Fiecare eșantion a fost investigat prin diferite metode fizico-chimice și spectrale, măsurătorile fiind efectuate la temperatura camerei (20 °C - 25 °C).

Concentrația ionilor de hidrogen a soluțiilor fenotiazinice a fost monitorizată folosind un pH-metru (Lab 860, Schott Instruments) care poate înregistra valori cu o precizie de  $\pm 0,01$ .

Spectrele de absorbție ale probelor au fost înregistrate între 200 nm – 1200 nm cu un spectrofotometru UV-Vis-NIR (Lambda 950, PerkinElmer) folosind o celulă spectrofotometrică cu un drum optic de 1 mm, eroarea totală de  $\pm 2,174$  % constând din eroarea de catalog intrinsecă de  $\pm 0.004$  % corelată cu eroarea de poziționare a cuvei în compartimentul dispozitivului (protocolul descris în [14]).

Tehnica TLC a fost implementată pentru separarea produșilor de fotoreacție formați în urma procesului de iradiere de 4 h, folosind ca fază staționară plăci de oxid de aluminiu acoperite cu silicagel cu indicator fluorescent  $F_{254}$  (Merck), în timp ce ca fază mobilă s-a utilizat un amestec de acetonă – metanol – 25 % amoniac (raport de volum 50:50:1). Din fiecare soluție de fenotiazină, 1 µl a fost aplicat pe o placă TLC, iar solventul (i.e. apa ultrapură) lăsat să se evapore. Placa a fost apoi plasată în rezervorul de developare, având o atmosferă de vapori saturată, și developată până când linia frontului fazei mobile s-a deplasat cu aproximativ 8 cm față de linia de pornire. Plăcile cromatografice uscate au fost examinate cu ajutorul camerei de iluminare UV (C-65 Chromato-Vue, UVP) echipate cu o lampă UVLS-28 EL de 8 W, care emite la 254 nm/366 nm, fiind ulterior fotografiate (D80, Nikon) și evaluate cu programul de analiză a imaginii JustTLC (Sweday).

#### Analiza pH

Pe parcursul procesului de iradiere UV de 4 h, pH-ul soluțiilor de fenotiazine a scăzut brusc, valorile obținute atât în cazul concentrației de 2 mg/ml cât și de 20 mg/ml indicând un declin exponențial pe măsură ce timpul de interacție cu fasciculul laser a crescut. Analiza comparativă dintre cele patru fenotiazine din figura 2.1.2 a arătat faptul că soluția de CPZ prezintă cea mai drastică reducere a nivelului de pH, indiferent de concentrație, la 2 mg/ml descrescând cu 57,9 %, în timp ce la 20 mg/ml cu 66,3 % la sfârșitul procesului de iradiere de 4 h. Declinul cel mai rapid a avut loc în primele minute de expunere la radiație laser pentru ambele concentrații. În cazul CPZ-ului de 2 mg/ml, pH-ul se stabilizează începând de la timpul de iradiere de 30 min (figura 2.1.2(a)), iar pentru probele de 20 mg/ml valorile continuă să descrească lent (figura 2.1.2(b)). CPZ-ul este urmat de PZ, valorile pH-ului scăzând după 4 h de iradiere cu 49,1 % în cazul concentrației de 2 mg/ml și cu 41,2 % pentru 20 mg/ml. În ceea ce privește probele de PMZ, această descreștere a fost 42,7 % pentru concentrația mai mică și 36,1 % pentru cea mare. În cazul TZ-ului de 2 mg/ml, pH-ul a suferit o reducere similară cu cea a PMZ-ului, și anume 42,8 %, pe când la 20 mg/ml după 4 h de expunere laser a fost obținută o scădere de 26,1 %. Aceasta este cea mai mică descrestere măsurată pentru toate probele studiate.

Declinul pH-ului se datorează creșterii concentrației ionilor de hidrogen, putând fi justificat de procesul de fotoionizare care are loc în timpul iradierii laser a probelor, dovedit în rapoartele [15–18]. Trebuie menționat că pH-ul soluțiilor poate influența rata de fotodegradare. De asemenea, pH-ul afectează randamentele cuantice, iar ratele de degradare prezintă o dependență de randamentele cuantice [19].

(a)





6

(b)

2 mg/ml \*

Figura 2.1.2: Evoluția pH-ului soluțiilor de fenotiazine în funcție de timpul de expunere la fascicul laser UV. Declinul exponențial al valorilor pH-ului pentru CPZ, PZ, PMZ și TZ la (a) 2 mg/ml și (b) 20 mg/ml. \*Datele de pH au fost obținute imediat după finalizarea procesului de iradiere. Bara de eroare:  $\pm 1$  %.

Fotodisocierea CPZ-ului poate urma posibile căi sugerate de [11]. În consecință, expunerea soluției de CPZ de 2 mg/ml la 266 nm duce la formarea de fotoproduși, precum PZ prin declorinare, CPZ-SO și PZ-SO prin oxidare și/sau hidroliză, PZ-OH, PZ-OH-SO și alți trei compuși neidentificați. Spre deosebire de CPZ, PZ-ul nu are calea disponibilă pentru formarea radicalilor prin declorinare. Prin urmare, datorită prezenței clorului și, cel mai probabil, din cauza reacției de declorinare, CPZ-ul comparativ cu PZ-ul prezintă un timp de viață mai scurt al stării sale de triplet [18]. Mai mult decât atât, azotul asociat CPZ-ului și PZ-ului capătă sarcină pozitivă la valori de pH reduse [20]. Procesul de fotodegradare a fost de asemenea studiat de către [21], fiind propusă o cale de fototransformare pentru TZ. S-a raportat că eliminarea primară a TZ-ului urmează modelul cinetic exponențial de ordinul întâi în doi pași. Structura moleculară a fotoprodușilor identificați a fost clarificată prin cromatografie de lichide – spectrometrie de masă, unde căile de degradare au inclus hidroxilare, sulfoxidare, dehidroxilare, precum și S- și N-dealchilare, TZ-2-sulfoxid (mezoridazină) și TZ-5-sulfoxid fiind cei doi produși principali care apar, cunoscuți și ca metaboliții umani ai TZ-ului activi din punct de vedere farmacologic [21]. Dintre cei nouă fotoproduși, vizualizați prin analiza TLC anterioară [22], patru au fost identificați în urma iradierii TZ-ului în aceleași condiții ca în studiul prezent, și anume: mezoridazină care suferă în continuare 2-oxidare în sulforidazină (TZ-2-sulfonă), TZ-5-sulfoxid și TZ-N-desmetii [22].

#### Analiza prin spectroscopie de absorbție UV-Vis-NIR

Spectrele de absorbție UV-Vis-NIR au evidențiat impactul procesului de expunere la 266 nm asupra soluțiilor de fenotiazine. Pot fi observate modificări spectrale în figurile 2.1.3 - 2.1.4 obținute pe măsură ce timpul de interacție a eșantioanelor cu radiația laser crește. Unul dintre maximele de absorbție caracteristice ale probelor de 2 mg/ml neiradiate apare la 307 nm în cazul CPZ-ului (figura 2.1.3(a)), la 302 nm pentru PZ (figura 2.1.3(b)), la 299 nm în cazul PMZ-ului (figura 2.1.3(c)) și la 314 nm pentru TZ (figura 2.1.3(d)), find cel mai probabil atribuit tranziției electronice  $n - \pi^*$  [23]. Acest maxim a prezentat deplasări hipsocromice și hipercromice în urma expunerii la radiație laser. Se poate remarca faptul că începând de la 1 h de iradiere, maximul respectiv se despică în două vârfuri, la 285 nm și 291 nm în cazul PZ-ului (figura 2.1.3(b)), iar pentru PMZ la 285 nm și 289 nm (figura 2.1.3(c)).

Banda de absorbție, evidențiată în figura 2.1.3 pentru cele patru fenotiazine, poate apărea ca urmare a perechilor cu un singur electron în structura atomului de sulf din inelul fenotiazinic [24]. Deplasarea sa hipsocromică într-un astfel de solvent polar precum apa, alături de coeficientul său molar de extincție scăzut (comparativ cu valorile ridicate ale primei benzi caracteristice cu maximul la 254 nm, 252 nm, 249 nm și 262 nm, observate pentru probele de CPZ [10], PZ [25], PMZ [12], respectiv TZ [22], diluate la 0,2 mg/ml), fundamentează natura  $n - \pi^*$  a benzii [23].

Rezultatele arată că toate aceste schimbări induse spectrelor inițiale (i.e. probelor neiradiate) sunt corelate cu fotodegradarea compușilor parentali în timpul iradierii. Această degradare modifică structura chimică inițială prin includerea grupărilor funcționale care, la rândul lor, conduc la generarea de noi produși de reacție care absorb în domeniul UV.



Figura 2.1.3: Evoluția maximului de absorbție caracteristic al fenotiazinelor de 2 mg/ml expuse la radiație laser emisă la 266 nm. Spectrele de absorbție ale soluțiilor de (a) CPZ, (b) PZ, (c) PMZ și (d) TZ. Bara de eroare:  $\pm 2,174$  %.

Alegerea concentrației de 2 mg/ml poate fi atribuită faptului că, la nivelul de energie a fasciculului laser de 6,5 mJ, compusul parental se transformă rapid în noi fotoproduși, având loc dispariția totală a agentului inițial [10]. Mai mult decât atât, la 2 mg/ml contribuția micelelor în soluții poate fi evitată, acestea fiind sub concentrația critică [26]. În schimb, la 20 mg/ml, formarea micelelor poate avea loc în primele etape ale procesului de iradiere, așa cum este sugerat în cazul CPZ-ului. De asemenea, la o concentrație atât de mare, numărul de fotoproduși generați este sporit, dar produsul parental nu este complet distrus [10].

De-a lungul procesului de expunere la fascicul laser, o nouă bandă largă se formează în domeniul 450 nm – 650 nm, care prezintă o deplasare hipercromică progresivă pe măsură ce timpul de iradiere laser ajunge treptat la 4 h, schimbarea fiind mai pronunțată la oncentrația de 20 mg/ml comparativ cu cea la 2 mg/ml pentru toate fenotiazinele, cea mai mare intensitate având CPZ-ul.

În figura 2.1.4, aceeași evoluție spectrală a fost urmărită imediat după procedura expunerii laser a soluțiilor pentru a investiga stabilitatea fenotiazinelor în primele zile. Prin iradiere sunt induse modificări în spectrul inițial al probelor, ceea ce indică schimbări structurale, substituenții inelului fenotiazinic fiind modificați, și formându-se astfel noi fotoproduși.

Benzile din domeniul NIR provin de la radicalii liberi formați pe parcursul iradierii [16]. În timp ce maximele din domeniul vizibil rămân prezente pentru intervale de timp mai lungi (i.e. de ordinul săptămânilor), cele din domeniul spectral NIR au timp de viață până la 24 h – 48 h după finalizarea procesului de iradiere (în funcție de medicament [27]), sugerând că unii dintre produșii noi generați au un caracter tranzitoriu [13]. Astfel, aceștia nu mai pot fi găsiți în soluții la momentul înregistrăriii spectrelor prezentate anterior (figura 2.1.3). Prin urmare, s-a ajuns la concluzia că amestecul de fotoproduși este inițial instabil (i.e. primele 24 h – 48 h) din punct de vedere al conținutului, după care se stabilizează.



Figura 2.1.4: Evoluția benzilor de absorbție ale fenotiazinelor de 2 mg/ml imediat după expunerea la radiație UV. Spectrele soluțiilor de (a) CPZ, (b) PZ, (c) PMZ și (d) TZ în domeniul spectral vizibil și NIR. \*Spectrele de absorbție înregistrate imediat după finalizarea procesului de iradiere. Detaliu: Cinetica absorbanței maximelor în decursul procesului de expunere la fascicul laser arată o creștere sigmoidală a intensității în cazul probelor de (b) PZ și (c) PMZ. Bara de eroare: ± 2,174 %.

### Analiza TLC

Tehnica TLC a permis vizualizarea și compararea directă a fotoprodușilor generați în urma expunerii compușilor la fascicul laser UV. Deoarece probele de 2 mg/ml s-au dovedit a conține fotoproduși la concentrații prea scăzute, nu au putut fi observate și cuantificate prin metoda TLC decât cele de 20 mg/ml. Plăcile TLC din figura 2.1.5 au fost vizualizate la 254 nm, fotografiate și prezentate ca imagini în tonuri de gri. Se pot vedea produșii care absorb la această lungime de undă, unde procesul de iradiere are drept consecință migrarea și separarea acestora, prima coloană ilustrând proba neexpusă iar a doua pe cea expusă 4 h la radiație laser (pe rând pentru cele patru fenotiazine). Polaritatea fotoprodușilor descrește de jos în sus (săgeata din figura 2.1.5), cei mai polari regăsindu-se la linia de start (linia neagră întreruptă din figura 2.1.5).

În ceea ce privește soluția de CPZ (figura 2.1.5(a)), se poate observa că toți opt fotoprodușii detectați sunt mai polari decât substanța inițială. Referitor la PZ (figura 2.1.5(b)), numărul de fotoproduși generați după iradiere este doar cinci, toți fiind mai polari decât compusul parental. În cazul PMZ-ului (figura 2.1.5(c)), apar șapte fotoproduși după expunerea la fascicul laser, șase dintre aceștia fiind mai polari și unul mai puțin polar decât compusul inițial. Pentru TZ (figura 2.1.5(d)), au fost detectați cinci fotoproduși, toți fiind mai polari în raport cu substanța parentală. Astfel, CPZ-ul are cei mai mulți fotoproduși formați în timpul iradierii de 4 h, urmat de PMZ, eșantioanele de PZ și TZ având cei mai puțini, egali ca număr.

Imaginile din figura 2.1.5 au fost analizate cu programul JustTLC, care a facilitat identificarea calitativă a fotoprodușilor sau claselor de fotoproduși cu aceeași polaritate. Valorile factorului de retenție Rf obținute pentru compușii parentali și fotoprodușii acestora sunt indicate în figura 2.1.5. Poate fi notat că valorile Rf cresc de jos în sus, de-a lungul developării.



Figura 2.1.5: Plăcile TLC care conțin probele de fenotiazine neiradiate și iradiate la concentrația de 20 mg/ml. Migrarea și separarea compușilor de (a) CPZ, (b) PZ, (c) PMZ și (d) TZ, fiecare având două coloane, una pentru eșantionul neexpus și cealaltă pentru cel expus la radiație laser timp de 4 h. Notații:  $Rf_{CPZ}$  – factorul de retenție pentru CPZ și fotoprodușii săi,  $Rf_{PZ}$  – factorul de retenție pentru PZ și fotoprodușii săi,  $Rf_{PMZ}$  – factorul de retenție pentru PMZ și fotoprodușii săi,  $Rf_{TZ}$  – factorul de retenție pentru TZ și fotoprodușii săi. N.B.: Factorul de retenție al fotoprodușilor crește cu timpul de developare, pe când polaritatea acestora scade (indicația  $\uparrow$ ).

Rezultatele au arătat că produsul parental este încă prezent în soluțiile de 20 mg/ml, nefiind complet fotodegradat după terminarea procesului de iradiere. De asemenea, cu toate că metoda TLC nu este foarte precisă (în comparație cu alte tehnici cromatografice) și nu poate confirma sau identifica structurile moleculare ale fotoprodușilor, poate fi implementată cu succes pentru identificarea tentativă și semicantitativă a fotoprodușilor obținuți în urma expunerii la radiație laser.

### Concluzii

În cadrul acestui subcapitol au fost studiate efectele radiației unui laser pulsat emise la 266 nm asupra proprietăților fizico-chimice și spectrale ale soluțiilor de CPZ, PZ, PMZ și TZ. Iradierea a avut loc în intervalul 1 min – 240 min, prima observație constând în schimbarea treptată a culorii probelor. Metode fizico-chimice analitice și spectroscopice au fost utilizate pentru analiza eșantioanelor obținute, indicând modificări structurale prin degradarea compușilor parentali și generarea de fotoproduși ca urmare a interacției radiației UV cu soluțiile de fenotiazine. S-a observat o scădere exponențială a valorilor pH-ului de-a lungul procesului de iradiere laser de 4 h. În ceea ce privește spectrele de absorbție UV-Vis-NIR, rezultatele au evidențiat deplasări hipso- și hipercromice ale maximelor de absorbție în spectrul UV și apariția unor benzi noi în domeniul spectral Vis-NIR. Maximul benzii din vizibil suferă o deplasare hipercromică progresivă odată cu creșterea timpului de iradiere și are durată de viață de ordinul săptămânilor. Benzile din domeniul NIR, însă, dispar din spectrul de absorbție în primele 24 h – 48 h după terminarea expunerii soluțiilor la fascicul laser, sugerând prezența unor fotoproduși tranzitorii. Analiza TLC a oferit o perspectivă asupra numărului de fotoproduși generați în soluțiile studiate în urma iradierii. Prin combinarea acestor tehnici de investigare se obțin informații referitoare la fototransformările care survin în structura moleculară a fenotiazinelor.

### 2.2 Stabilitatea soluțiilor de fenotiazine pre- și post-iradiere laser

Acest subcapitol sintetizează rezultatele referitoare la stabilitatea soluțiilor de fenotiazine în diferite condiții de depozitare (e.g. temperatură și iluminare). Stabilitatea eșantioanelor medicamentoase a fost studiată urmărind evoluția spectrelor de absorbție înainte și după iradiere cu fascicul laser UV. Pe de o parte, probele neiradiate stocate în frigider (2 °C – 5 °C și întuneric) s-au dovedit a fi stabile, pe când cele păstrate în laborator (20 °C – 25 °C) au suferit modificări spectrale, în special soluțiile care au fost expuse la lumina ambiantă față de cele depozitate la întuneric. Pe de altă parte, eșantioanele iradiate cu fascicul laser au manifestat schimbări similare, dar mai rapide și intense în comparație cu probele expuse la lumina ambiantă,

sugerând modificări moleculare care s-ar putea datora derivaților fenotiazinici mai polari. Rezultatele prezentate în această secțiune au fost publicate în lucrarea Smarandache et al. (Simon autor corespondent), Stability studies on Promethazine unexposed and exposed to UV laser radiation, Proc. SPIE, Physical Chemistry of Interfaces and Nanomaterials XIV, 954916, SPIE Optics + Photonics, San Diego, CA, USA, 2015 [12] și în articolul Morán et al., Toxicity study in blood and tumor cells of laser produced medicines for application in fabrics, Colloids Surf. B Biointerfaces 137, 91-103, 2016 [13].

#### Procedura experimentală

În cadrul acestui subcapitol accentul s-a pus pe derivatul fenotiazinic PMZ, prezentând în detaliu stabilitatea în timp a acestuia înainte de expunerea la radiație laser în funcție de concentrație, temperatură și condiții de iluminare. Rezultatele despre stabilitatea celorlalți trei derivați, discutați în subcapitolul anterior, după procesul de iradiere vor fi descrise mai succint.

Soluția PMZ de stoc a fost preparată la  $6 \cdot 10^{-2}$  M, apoi au fost efectuate diluții succesive până la o concentrație de  $10^{-6}$  M, materialele fiind identice cu cele din subcapitolul 2.1. Pentru studiile de stabilitate pe probele neiradiate, s-a lucrat la  $6 \cdot 10^{-2}$  M,  $10^{-3}$  M,  $10^{-4}$  M și  $10^{-5}$  M din intervalul de concentrație respectiv.

În ceea ce privește expunerea la radiație laser (sursa de laser și protocolul de iradiere conform subcapitolului 2.1), soluțiile medicamentoase au fost preparate la concentrația de 20 mg/ml (corespunzând la  $\approx 6 \cdot 10^{-2}$  M în cazul PMZ-ului și PZ-ului) și supuse iradierii până la 4 h. Pulberile de fenotiazine, solventul și procedura de pregătire a probelor au fost identice cu cele din subcapitolul 2.1. Eșantioanele au fost depozitate în frigider (2 °C – 5 °C, întuneric), fiind prelevate de la temperatura de stocare cu 30 min înainte de înregistrarea spectrelor de absorbție pentru a atinge temperatura camerei (20 °C – 25 °C). În vederea realizării studiului de stabilitate în timp, au fost implementate următoarele condiții de depozitare:

- (i) soluții păstrate la 2 °C 5 °C și la întuneric,
- (ii) soluții păstrate la 20 °C 25 °C și la întuneric,
- (iii) soluții păstrate la 20 °C 25 °C și expuse la lumina ambiantă.

Stabilitatea în timp a probelor neiradiate și iradiate cu fascicul laser a fost investigată folosind spectrofotometrul UV-Vis-NIR (Lambda 950, PerkinElmer) cu aceiași parametri ca în subcapitolul 2.1. Spectroscopia UV-Vis-NIR oferă o metodă rapidă, accesibilă și precisă de evaluare a indicatorilor de stabilitate a farmaceuticelor, furnizând informații necesare pentru prezicerea viabilității produselor [28]. În cadrul acestui studiu, stabilitatea în timp a fost urmărită imediat (0 h), în primele zile (24 h, 48 h și 96 h) și săptămânal după terminarea procesului de iradiere (cel mult până la 8 săptămâni).

### Analiza prin spectroscopie de absorbție UV-Vis-NIR

În prima fază, s-a avut în vedere urmărirea dependenței spectrelor de absorbție în funcție de concentrația soluției, după cum este ilustrat în figura 2.2.1. Spectrele la diferite concentrații ale probei de PMZ neiradiată prezintă maxime în domeniul spectral UV, la 249 nm și 299 nm, așa cum s-a discutat în subcapitolul 2.1. Primul maxim de absorbție apare cel mai probabil datorită unei tranziții  $\pi - \pi^*$ , în timp ce banda de absorbție relativ largă la 299 nm, se ivește ca urmare a unei tranziții  $n - \pi^*$  [23].



Figura 2.2.1: Evoluția benzilor de absorbție în funcție de concentrația de fenotiazină neiradiată. Spectrele de absorbție ale PMZ-ului în apă ultrapură la concentrații între  $10^{-6}$  M  $- 10^{-3}$  M.

In etapa următoare, a fost studiată stabilitatea eșantioanelor de PMZ neiradiate, stocate în diferite condiții de temperatură și iluminare, așa cum se poate vedea in figura 2.2.2. Spectrele de absorbție ale soluțiilor la  $10^{-3}$  M, păstrate la întuneric la 4 °C (figura 2.2.2(a)) și la 22 °C (figura 2.2.2(b)), indică o degradare lentă în timp, accentuată la proba depozitată la temperatura camerei prin scăderea coeficientului molar de extincție a celor două benzi de absorbție caracteristice.

O degradare accelerată apare sub influența luminii ambiante. Calitativ, soluțiile de PMZ prezintă modificări ale culorii de la albastru deschis (după 24 h) la bleumarin (1 săptămână). Schimbarea graduală de culoare este însoțită de deplasările hiper-, respectiv hipsocromică de 5 nm ale maximului de absorbție de la 299 nm și de apariția unor noi benzi în domeniul spectral vizibil (figura 2.2.2(c)). Maximul de la 536 nm, care survine după 24 h de păstrare a probei la lumină și temperatură ambiantă, suferă o deplasare hipsocromică de 10 nm după 5 săptămâni de stocare. Acestea se pot datora principalilor metaboliți ai PMZ-ului, și anume PMZ sulfoxid, desmonometil PMZ și desmonometil PMZ sulfoxid [29]. De asemenea, deplasarea spre lungimi de undă mai mici al celui de-al doilea maxim de absorbție poate avea loc ca urmare a modificării polarității sau a pH-ului soluției. Totodată, în spectrele probelor expuse la lumină ambiantă apar trei puncte izosbestice la 214 nm, 229 nm și 259 nm (săgețile din figura 2.2.2(c)). Existența punctului izosbestic indică faptul că de-a lungul expunerii la lumină ambiantă a soluției de fenotiazină se produce o reacție fotochimică în urma căreia o entitate moleculară este convertită în alta care are aceeași valoare a coeficientului molar de extincție la lungimea de undă corespunzătoare [30].



Figura 2.2.2: Stabilitatea, urmărită timp de 5 săptămâni, a soluțiilor neiradiate de PMZ la concentrația de  $10^{-3}$  M în diferite condiții de stocare. Spectrele de absorbție ale probelor păstrate la întuneric la (a) 4 °C și (b) la 22 °C, precum și (c) expuse la lumină ambiantă la 22 °C. Bara de eroare:  $\pm 2,174$  %.

In ceea ce privește spectrele de absorbție ale soluțiilor neiradiate de PMZ la concentrația de 20 mg/ml, ilustrate în figura 2.2.3, nu există o modificare notabilă, cu excepția creșterii ușoare a absorbanței în spectrul vizibil atunci când probele sunt păstrate la întuneric. Stocarea la 4 °C induce modificări subtile în spectrul

inițial (figura 2.2.3(a)), la 22 °C, însă, degradarea începe să fie mai accentuată, o nouă bandă largă apărând în domeniul spectral verde după 3 săptămâni, care prezintă o deplasare hipercromică și, în plus, se lărgește și mai mult după 2 luni de depozitare (figura 2.2.3(b)). Soluția expusă la lumină ambiantă la concentrația de 20 mg/ml ( $\approx 6 \cdot 10^{-2}$ ), comparativ cu  $10^{-3}$  M, a suferit modificări moleculare mai rapide și drastice, evidențiate prin apariția de noi maxime în domeniul vizibil la 457 nm și 652 nm după prima săptămână de stocare, unii fotoproduși generați fiind tranzitorii (i.e. maximul de la 457 nm) și neregăsindu-se în spectrul probei după 3 săptămâni (figura 2.2.3(c)).



Figura 2.2.3: Stabilitatea, urmărită timp de 8 săptămâni, a soluțiilor neiradiate de PMZ la concentrația de 20 mg/ml, depozitate în diferite condiții de iluminare și temperatură. Spectrele de absorbție ale probelor stocate la întuneric la (a) 4 °C și (b) la 22 °C, precum și (c) expuse la lumină ambiantă la 22 °C. Bara de eroare:  $\pm 2,174$  %.

Rezultatele au arătat că astfel de soluții fenotiazinice neiradiate sunt cele mai stabile atunci când sunt păstrate la frigider (i.e. întuneric, 4 °C). În acest fel sunt protejate de lumina mediului ambiant și de fluctuațiile de temperatură. Trebuie precizat că dintre cei doi parametri (temperatură și condiție de iluminare), expunerea probelor la surse de lumină este cea mai importantă și are o influență majoră asupra stabilității acestora. Însă, s-a constatat de asemenea că degradarea în funcție de temperatură, chiar dacă este redusă, este mai pronunțată în cazul soluțiilor stocate la temperatura camerei. Ca urmare, studiul de stabilitate al eșantioanelor iradiate a fost efectuat numai pentru cele depozitate la 4 °C.

Spectrele din figura 2.2.4, au fost reprezentate la 20 mg/ml, deoarece de-a lungul domeniului Vis-NIR (i.e. 450 nm – 1000 nm), absorbanța nu este suficient de mare pentru a satura semnalul, dar este îndeajuns de semnificativă pentru a evidenția mici modificări spectrale care ar putea sugera alterări moleculare.

În general, soluțiile de fenotiazine pe bază de apă sunt stabile după expunerea la radiație laser dacă sunt stocate corespunzător. Spectrele soluțiilor iradiate 4 h trec printr-o modificare continuă în timp, alterarea putând fi observată prin scăderea treptată a valorii coeficientului molar de extincție. Probele de CPZ (figura 2.2.4(a)), PZ (figura 2.2.4(b)) și PMZ (figura 2.2.4(c)) au câte o bandă în domeniul verde, iar dinamica maximelor de absorbție sugerează fotodegradarea compușilor parentali.



Figura 2.2.4: Stabilitatea, urmărită timp de 6 săptămâni, a soluțiilor fenotiazinice la concentrația de 20 mg/ml expuse 4 h la radiație laser UV și stocate la întuneric la 4 °C. Spectrele de absorbție ale probelor de (a) CPZ, (b) PZ, (c) PMZ și (d) TZ. Bara de eroare:  $\pm 2,174$  %.

Pe lângă benzile din vizibil, probele de CPZ și PZ prezintă maxime de absorbție și în domeniul NIR, care dispar rapid (la 24 h după terminarea procesului de iradiere) și aparțin cel mai probabil compușilor tranzitorii care au timp de viață scurt. Aceste modificări scot în evidență că amestecul de fotoproduși nu este stabil în primele 24 h de la sfârșitul expunerii la radiație laser, dar se stabilizează ulterior, după cum este raportat în secțiunea anterioară. Prin urmare, se poate spune că numai concentrațiile compușilor cu timp de viață scurt se schimbă în timp după expunere la fascicul laser. Acești compuși, în consecință, nu interacționează cu suprafețele țintă din cadrul studiilor următoare (subcapitolele 2.3, 3.2 și 3.3), deoarece experimentul a fost efectuat după stabilizarea soluțiilor fenotiazinice.

### Concluzii

În acest subcapitol a fost raportată monitorizarea stabilității în timp a soluțiilor de PMZ neiradiate, păstrate în diferite condiții de temperatură și iluminare, pe baza proprietăților spectrale de absorbție UV-Vis-NIR înregistrate periodic. La întuneric nu sunt modificări spectrale semnificative la temperaturile considerate (4 °C și 22 °C). O degradare accentuată intervine atunci când eșantioanele sunt expuse la lumină ambiantă. Mai mult decât atât, când soluțiile de CPZ, PZ, PMZ și TZ sunt expuse la radiație laser UV, procesul de fototransformare este accelerat, având loc degradarea compușilor inițiali și generarea de noi specii.

Studiile de stabilitate în timp a medicamentelor în diferite condiții de depozitare și manipulare sunt importante, deoarece rezultatul cel mai evident al modificării acestora constă în pierderea potenței medicale. În consecință, acest lucru poate duce la un produs farmaceutic inactiv. Dimpotrivă, în condiții de expunere controlată la lumină, este posibil să se obțină fotoproduși care ar putea îmbunătăți acțiunea compusului parental sau să se obțină noi proprietăți terapeutice. De aceea, cercetările anterioare raportate în [10, 11, 25, 31, 32] s-au concentrat pe găsirea condițiilor optime de iradiere cu fascicul laser a fenotiazinelor.

### 2.3 Interacția picăturilor de fenotiazine iradiate laser cu suprafețe permeabile și impermeabile

In acest subcapitol sunt prezentate rezultatele asupra umectabilității suprafețelor țintă de bumbac, poliester și Parafilm M de către picături care conțin soluții de CPZ, PZ și PMZ neiradiate și iradiate laser, urmărind evoluția unghiurilor de contact și a diametrelor de umectare. A fost constatat faptul că unele soluții fenotiazinice, cuprinzând fotoprodușii generați în urma expunerii la fascicul laser a compușilor parentali, au proprietăți de umectare favorabile în comparație cu cele neiradiate, oferind astfel noi perspective promițătoare pentru aplicații biomedicale și implementări tehnologice, atât pe Pământ, cât și în spațiul extraterestrial. Studiul a fost desfășurat în condiții terestriale. Rezultatele unor cercetări similare, dar efectuate în condiții de hipergravitație și microgravitație sunt descrise în subcapitolul 3.3, respectiv 4.2. Secțiunea de față conține rezultatele publicate în articolul Simon et al., Interaction of solutions containing phenothiazines exposed to laser radiation with materials surfaces, in view of bio-medical applications, Int. J. Pharm. 475(1-2), 270-281, 2014 [14] și în capitolul de carte Simon, Pascu, Interaction of medicines exposed to laser beams with fabrics of interest for biomedical applications, Laser Optofluidics in Fighting Multiple Drug Resistance, Bentham Science Publisher, 407-427, 2017 [33].

### Procedura experimentală

Soluțiile de CPZ, PZ și PMZ folosite în cadrul experimentelor din acest subcapitol au fost pregătite în apă ultrapură la o concentrație de 20 mg/ml, apoi expuse timp de 4 h la radiație laser emisă la 266 nm, materialele, procedura de preparare și protocolul de iradiere fiind identice cu cele din subcapitolul 2.1.

Suprafețele țintă hidrofile implementate în acest studiu au constat din țesături standard netratate de bumbac 100 % (DIN 53919/ISO 2267, wfk-Testgewebe) și poliester 100 % (wfk-Testgewebe), luându-se în considerare utilizarea lor în tratamente medicale. În cazul acestor materiale permeabile, condițiile de echilibru sunt rareori atinse în cursul procesului de umectare [34], deoarece picăturile sesile sunt în continuă evoluție în timp ce se extind pe suprafață și pătrund printre și/sau în fibrele textilului. Figura 2.3.1 prezintă evoluția unghiurilor de contact ale unei picături de fenotiazină plasată pe o țesătură hidrofilă permeabilă.



Figura 2.3.1: Evoluția unghiurilor de contact atunci când are loc întinderea unei picături de soluție fenotiazinică pe o suprafață de poliester. N.B.: Poate fi observată o descreștere semnificativă de 36,2 % și 30,9 % a valorilor unghiurilor de contact stânga, respectiv dreapta, în decursul unui interval de timp de 50 ms.

Inainte de măsurări, textilele de bumbac și poliester au fost supuse unei proceduri de curățare, constând din zece, respectiv cinci cicluri de spălare în apă caldă în vederea eliminării contaminărilor. Pentru a verifica gradul de curățare a țesăturii, tensiunea superficială a apei folosite pentru spălare a fost măsurată în fiecare ciclu cu un tensiometru optic (Drop and Bubble Shape Tensiometer PAT-1, Sinterface Technologies) până când valoarea de 72 mN/m – 72,7 mN/m a fost atinsă la temperatura 20 °C – 25 °C [35]. După aceea, textilele au fost secționate și plasate pe un suport reglabil utilizat pentru întinderea acestora (FSH 30, DataPhysics).

Suprafața țintă hidrofobă considerată pentru acest studiu a fost Parafilm M (Bemis Company), o folie semitransparentă și flexibilă, compusă dintr-un amestec de ceară și poliolefine. Acest termoplastic, folosit în mod obișnuit în sistemul de sănătate, în laboratoarele farmaceutice și de cercetare, a fost ales deoarece poate și imita materialele polimerice întâlnite la protecția exterioară a cablurilor electrice, precum și la tubulaturile diferitelor sisteme (e.g. purificarea aerului și a apei, controlul termic, etc.), care formează o parte considerabilă a componentelor din cadrul stațiilor de cercetare izolate (e.g. Concordia, Aquarius, ISS, etc.) și care pot necesita decontaminări în timpul misiunilor de lungă durată. În cazul Parafilmului M, au fost efectuate măsurări de unghi de contact de avansare și retragere, constând în adăugarea unei picături de 1 µl la fiecare etapă până la generarea unei picături sesile de 10 µl și respectiv, îndepărtarea pas cu pas cu același volum a picăturilor acumulate, proces prezentat în figura 2.3.2.

Unghiurile de avansare și de retragere au fost determinate împreună cu histerezisul acestora. Histrezisul apare ca urmare a rugozității suprafeței și eterogenității chimice, subiectul fiind tratat în [36]. Parafilmul M a fost poziționat pe o lamelă de microscop, obținându-se o suprafață netedă întinsă, care astfel devine adecvată pentru aplicarea soluțiilor medicamentoase.



Figura 2.3.2: Reprezentarea schematică a metodei picăturii sesile dinamice. Unghiurile de contact de (a) avansare și (b) retragere pe o suprafață de Parafilm M obținute prin adăugarea și înlăturarea treptată a unui volum predefinit de lichid.

Gradul de umectare a fost determinat măsurând unghiurile de contact și diametrele de umectare cu tehnica picăturii sesile. Măsurările au fost realizate utilizând un sistem optic de analiză a profilului picăturii (OCA 40Micro, DataPhysics) și programul SCA 20 (DataPhysics).

Primul pas a constat în generarea de picături suspendate prin intermediul unui subsistem de dozare (SD-DM, DataPhysics), echipat cu o seringă de unică folosință și un capilar cu diametru extern de 0,5 mm.

În al doilea pas, picăturile suspendate produse au fost aduse ușor în contact cu ținta solidă, unde a avut loc detașarea, formându-se picături sesile. Vizualizarea acestora a fost realizată prin intermediul unui sistem de procesare a imaginilor de mare viteză (UpHSC 1000, Dataphysics). Picăturile amplasate pe suprafață au fost iluminate de un sistem cu LED-uri cu intensitate controlabilă, obținându-se astfel formele lor întunecate cu contur bine definit pe un fundal gri deschis spre alb, ceea ce asigură contrastul necesar interpretării datelor. Imaginile picăturilor au fost mărite cu un obiectiv de magnificare care permite ajustarea focalizării și a unghiului de observare.

In cele din urmă, imaginile obținute au fost analizate prin stabilirea timpului de impact asociat picăturilor ca primă etapă, urmată de definirea liniei de contact (i.e. liniei de bază) între picăturile medicamentoase și suprafețele țintă, etapa finală constând în determinarea conturului picăturii.

### Analiza proprietăților de umectare

Intrucât fenotiazinele sunt molecule amfifile [20], au un comportament similar cu surfactanții. Acest lucru poate explica de ce soluțiile de fenotiazină au prezentat tensiuni superficiale reduse [14], ducând astfel la o capacitate de umectare sporită în comparație cu solventul utilizat pentru preparare. Aceste proprietăți de umectare deosebite s-au manifestat în cazul suprafețelor hidrofile. Probele fenotiazinice s-au răspândit și absorbit rapid, pătrunzând ușor în fibrele țesăturilor permeabile de bumbac și poliester. Însă, scopul principal al acestui studiu a constat în a determina dacă eșantioanele iradiate cu fascicul laser au proprietăți de umectare mai bune în comparație cu cele neiradiate.

Capacitatea de absorbție și/sau de întindere a picăturii poate fi determinată observând evoluția profilului prin examinarea parametrilor de influență, cum ar fi unghiul de contact, diametrul de umectare și volumul picăturii sesile. În cazul suprafețelor permeabile poate avea loc atât procesul de absorbție, cât și cel de răspândire a picăturii. La absorbție, toți parametrii scad în timp, pe când la întindere descreșterea unghiului de contact este acompaniată de creșterea diametrului de umectare, volumul rămânând constant pe tot parcursul procesului.

Trebuie menționat că soluțiile de CPZ preparate inițial și expuse radiației laser la 20 mg/ml au fost diluate până la 0,2 mg/ml, având ca scop investigarea influenței concentrației asupra umectabilității suprafețelor, după cum este ilustrat în 2.3.3. În ceea ce privește ținta de bumbac, soluțiile neiradiate și iradiate la 20 mg/ml evidențiază proprietăți de umectare îmbunătățite în contrast cu cea de 0,2 mg/ml (figura 2.3.3(a)). A fost remarcat faptul că soluția la 0,2 mg/ml expusă la fascicul laser timp de 4 h a prezentat diametre de umectare mai ridicate decât cea neiradiată la aceeași concentrație (figura 2.3.3(b)), fiind în concordanță cu datele de unghi de contact aferente. Cu toate acestea, se poate observa la 20 mg/ml că deși cele mai mici unghiuri de contact aparțin probei neiradiate, diametrele de umectare nu sunt cele mai ridicate după cum era de așteptat, acestea fiind comparabile cu valorile obținute în cazul soluțiilor la 0,2 mg/ml. Referitor la concentrația mare, soluția neiradiată a pătruns, cel mai probabil, în volum, pe când cea iradiată s-a întins pe suprafață, explicând astfel creșterea diametrelor de umectare. Diferența între comportamentul eșantionului neiradiat și cel iradiat poate fi datorată prezenței fotoprodușilor în soluția expusă 4 h la radiație laser. Totuși, nu se poate afirma că în cazul probei neiradiate are loc doar procesul de absorbție și în cazul celei iradiate numai procesul de întindere a picăturii, datele obținute mai degrabă sugerează că la 20 mg/ml în prima etapă survine răspândirea picăturii (creșterea diametrului până la o valoare maximă), iar în a doua fază picătura se absoarbe în țesătură (scăderea diametrului de umectare). Conform datelor experimentale, evoluția temporală asociată diametrelor de umectare pe bumbac urmărește distribuția unei funcții polinomiale quadratice.



Figura 2.3.3: Evoluția umectabilității suprafețelor de bumbac în funcție de concentrația soluțiilor de CPZ neiradiate și iradiate 4 h. Interacția țesăturii de bumbac cu picături de CPZ la 0,2 mg/ml și 20 mg/ml determinată prin (a) unghiuri de contact și (b) diametre de umectare.

In ceea ce privește suprafața țintă de poliester, a fost constatat faptul că la 0,2 mg/ml absorbția soluțiilor medicamentoase prezintă o evoluție lentă pe o perioadă îndelungată ( $\approx 0,5 \text{ s}$ ). Astfel, eșantioanele la 20 mg/ml asigură o absorbție mai rapidă alături de o umectabilitate mai bună a suprafeței față de concentrația de 0,2 mg/ml [33]. Evoluția diametrelor de umectare monitorizată în timp a indicat cele mai mari valori în cazul soluțiilor de 20 mg/ml [33], așa cum era de așteptat.

In următoarea etapă, a fost investigată influența celor două tipuri de materiale hidrofile asupra evoluției în timp a unghiurilor de contact și a diametrelor de umectare. Figura 2.3.4 prezintă studiul comparativ între interacția soluțiilor de fenotiazine neexpuse, precum și a celor expuse 4 h la radiație laser, cu suprafețele de bumbac și poliester. Se poate remarca faptul că CPZ-ul și PMZ-ul formează unghiuri de contact mai mici cu țesătura de bumbac, ceea ce indică o mai bună umectabilitate în contrast cu poliesterul. Totuși, proba de PZ iradiată a prezentat o capacitate de umectare mai bună pe poliester decât pe bumbac. Referitor la diametrele de umectare, toate eșantioanele iradiate laser au avut valori mai ridicate pe bumbac comparativ cu soluțiile neiradiate. În ceea ce urmează, doar concentrația de 20 mg/ml a fost considerată pentru studierea umectabilității suprafețelor.

In cazul suprafeței țintă hidrofobă au fost determinate unghiurile de contact de avansare și retragere, curbele corespunzătoare probei iradiate timp de 4 h fiind ilustrate în figura 2.3.5. În cele ce urmează, sunt prezentate numai rezultatele obținute pentru soluțiile de CPZ diluate la concentrația de 0,2 mg/ml. Se poate observa că prin creșterea volumului picăturii de medicament de la 1 µl la 10 µl pe suprafața de Parafilm M, valorile unghiurilor de contact scad ușor de la 104,05° la 100,77°, în timp ce la retragerea cu un increment de 1 µl a volumului picăturii, unghiurile scad dramatic până la 49,9°. Diferența importantă dintre unghiurile de contact de avansare și cele de retragere este evidențiată în figura 2.3.6, în unele cazuri histerezisul ajungând chiar și până la  $55^{\circ}$ .

Mai mult decât atât, figura 2.3.6 indică o creștere a curbei de histerezis asociate unghiurilor de contact în cazul unor picături cu volum mic pe măsură ce intervalul de timp de iradiere a soluțiilor de CPZ crește. Semnificația curbei de histerezis a unghiurilor de contact a fost analizată în detaliu în [37–39]. Explicația pentru comportamentul de histerezis se poate datora neomogenității suprafeței, existând regiuni care se comportă ca bariere în mișcarea liniei de contact. Prezența zonelor hidrofobe este specifică Parafilmului M. Aceste regiuni fixează mișcarea frontului soluției pe măsură ce avansează pe suprafață, ceea ce duce la creșterea unghiului de contact măsurat și, în plus, rețin mișcările de contracție ale frontului atunci când se retrage picătura, conducând astfel la scăderea unghiului de contact [39].



Figura 2.3.4: Evoluția umectabilității suprafețelor țintă în funcție de tipul materialului permeabil atunci când are loc interacția acestora cu picăturile de fenotiazine neexpuse și expuse la radiație laser timp de 4 h. Interacția picăturilor de CPZ cu textilele de bumbac și poliester obținută prin (a) unghiuri de contact și (b) diametre de umectare. Interacția picăturilor de PZ cu țesăturile de bumbac și poliester urmărită prin (c) unghiuri de contact și (d) diametre de umectare. Interacția picăturilor de PMZ cu textilele de bumbac și poliester determinată prin (e) unghiuri de contact și (f) diametre de umectare. Concentrația de medicament: 20 mg/ml.



Figura 2.3.5: Dependența unghiurilor de contact de avansare și de retragere în funcție de volumul picăturii de CPZ expuse la fascicul laser timp de 4 h. N.B.: Unghiurile de contact de avansare scad doar cu 3,2 %, pe când cele de retragere cu 50,5 %, atunci când volumul picăturii de soluție medicamentoasă este crescut de la 1 µl până la 10 µl cu un increment de 1 µl, apoi micșorat cu același pas până la 1 µl. Concentrația de medicament: 0,2 mg/ml (obținută prin diluție de la 20 mg/ml).



Figura 2.3.6: Histerezisul unghiurilor de contact în funcție de volumul picăturilor de CPZ, atât neexpuse cât și expuse la radiație laser timp de 4 h. Concentrația de medicament: 0.2 mg/ml (obținută prin diluție de la 20 mg/ml).

### Concluzii

În cadrul acestui subcapitol au fost prezentate studii privind umectabilitatea suprafețelor țintă hidrofile și hidrofobe de către soluții medicamentoase modificate în urma iradierii cu fascicul laser emis în UV. Conform rezultatelor obținute, soluțiile de CPZ, PZ și PMZ, atât cele neiradiate cât și cele iradiate, oferă proprietăți de umectare îmbunătățite pe suprafețe de bumbac și poliester în comparație cu apa ultrapură folosită ca solvent. Toate unghiurile de contact de pe suprafețele hidrofile respective au indicat valori mai mici de 90°, obținându-se astfel o umectabilitate mai bună a suprafeței, favorabilă în anumite aplicații. S-a observat de asemenea faptul că CPZ, atât neexpus cât și expus la radiație laser, prezintă proprietăți îmbunătățite de umectare pe suprafața de bumbac, în timp ce pe poliester, PZ-ul iradiat are o capacitate de umectare mai bună.

Prin cunoașterea proprietăților particulare ale fenotiazinelor expuse la fascicul laser UV, se poate înțelege mai bine interacția acestora cu diferite suprafețe țintă, având în vedere posibilele aplicații biomedicale. Întrucât, în multe cazuri, metodele standard de administrare a farmaceuticelor au eșuat, țesăturile impregnate cu agenți terapeutici furnizează instrumente promițătoare pentru a livra lent cantități mai mici de medicamente, cu scopul de a obține un tratament mai eficient într-un interval de timp optim.

# Capitolul 3

# Soluții de fenotiazine în condiții de hipergravitație

Misiunile spațiale pe termen lung implică, chiar dacă doar pentru perioade scurte, trecerea prin condiții de hipergravitație, și trebuie să fie pregătite să ofere mijloace pentru tratarea bolilor astronauților și/sau decontaminarea suprafețelor stațiilor spațiale care ar putea să apară la decolare, în timpul zborurilor sau la sosirea pe alte planete. O posibilă soluție ar putea rezida în folosirea de medicamente multifuncționale, cum ar fi derivații fenotiazinici. Având în vedere aceste perspective, în capitolul 3 sunt furnizate informații despre efectele hipergravitației asupra: (i) proprietăților fizico-chimice și spectrale ale soluțiilor fenotiazinice neiradiate și iradiate cu fascicul laser, (ii) suprafețelor permeabile impregnate cu picături de fenotiazine și (iii) proprietăților de umectare ale picăturilor fenotiazinice cu suprafețe țintă permeabile și impermeabile. Studiile din această secțiune au fost realizate în cadrul proiectului *Spin Your Thesis!* (SYT), sub egida ESA, la ESTEC. Experimentele au fost efectuate la facilitatea LDC, supunând probele, (i) în volum de ordinul mililitrilor, (ii) impregnate în țesături și (iii) sub formă de picături cu volum microlitric, la un mediu hipergravitațional cu accelerație gravitațională maximă de 20 de ori mai mare decât cea a Pământului. Au fost selectate diferite niveluri de hipergravitație: (i) 20 g în cazul eșantioanelor în volum, (ii) 20 g pentru textilele preimpregnate și (iii) 2 g, 5 g, 10 g și 20 g în cazul picăturilor.

# 3.1 Influența hipergravitației asupra proprietăților fizico-chimice și spectrale ale soluțiilor de fenotiazine iradiate laser

Deoarece există prea puține informații referitoare la farmaceutice expuse la niveluri ridicate de gravitație, această cercetare aduce o nouă perspectivă a impactului hipergravitatiei asupra solutiilor fenotiazinice. Stabilitatea medicamentelor este un element critic al misiunilor spațiale, în special în cazul celor de lungă durată. Prin urmare, trebuie avute în vedere studii de stabilitate înainte de imple-mentarea acestora în viitoarele călătorii spațiale extinse, unde produsele farmaceutice disponibile ar fi limitate și reaprovizionarea de pe Pământ ar fi imposibilă. Pentru investigarea stabilității medicamentelor, esantioanele au fost evaluate pre- și post-hipergravitație prin măsurători de pH, spectroscopie de absorbție UV-Vis-NIR și prin analiză TLC. Datele obtinute în subcapitolul prezent nu au evidentiat modificări semnificative între probele centrifugate si cele necentrifugate măsurate după campania LDC, subliniind stabilitatea fenotiazinelor neiradiate și iradiate, ceea ce ar putea reprezenta primul pas în posibila utilizare a acestora în viitoare misiuni spatiale. Analizele legate de proprietățile fizico-chimice și spectrale suferite în urma experimentului de hipergravitație au oferit informații despre: (i) stabilitatea pH-ului, (ii) deplasările hipso- și hipercromice ușoare ale spectrelor de absorbție UV-Vis și (iii) numărul constant al fotoprodușilor separați prin TLC. Investigațiile efectuate în condiții de hipergravitație au fost comparate cu cele în gravitatie terestră raportate în subcapitolul 3.1. Secțiunea de fată contine informații din raportul proiectului ESA [40], rezultatele prezentate fiind publicate în articolele Simon et al., Photoactive chlorpromazine and promazine drugs exposed to hypergravity conditions after interaction with UV laser radiation, Acta Astronaut. 189, 260-268, 2021 [8] si Simon et al., Stability Studies of UV Laser Irradiated Promethazine and Thioridazine after Exposure to Hypergravity Conditions, Molecules 27(5), 1728, 2022 [9].

### Procedura experimentală

Soluțiile fenotiazinice pe bază de apă ultrapură au avut ca soluți CPZ, PZ, PMZ și TZ (materialele și procedura de preparare conform subcapitolului 2.1). Probele la 2 mg/ml și 20 mg/ml au fost expuse la 266 nm până la 4 h (i.e. 1 min - 240 min), protocolul corespunzând cu cel din subcapitolul 2.1.

Trebuie precizat că o astfel de radiație UV nu este întâlnită în mod obișnuit în timpul zborurilor spațiale și nu se poate compara cu radiația cosmică din cauza disparităților de tip de radiație, doză, rată de doză și timp de expunere. Mediul de radiații din spațiul cosmic include, de asemenea, o combinație complexă de particule încărcate și sunt în prezent extrem de dificil de simulat astfel de condiții prin analogii terestre. Scopul acestui studiu nu a intenționat să simuleze efectele radiațiilor spațiale asupra soluțiilor de medicamente. În schimb, a urmărit să ofere o perspectivă asupra proprietăților specifice ale radiației laser UV care facilitează îmbunătățirea activității antimicrobiene a produselor farmaceutice fotoresponsive pentru a aborda provocările asociate cu rezistența la tratamente multiple cu medicamente (MDR).

Figura 3.1.1 prezintă procedura și configurația experimentală utilizate în cazul soluțiilor de fenotiazine în volum în cadrul proiectului SYT. După procesul de iradiere a probelor cu fascicul laser (figura 3.1.1(a)), soluțiile obținute au fost încărcate în microtuburi de centrifugă de 1 ml și plasate în stative standard (figura 3.1.1(b)). Suporturile au fost montate pe o platformă de aluminiu și poziționate pe podeaua unei gondole pentru a obține geometria optimă a LDC-ului (figura 3.1.1(c)). Având în vedere că accelerația este întotdeauna îndreptată spre podeaua gondolei, apăsând configurația experimentală [41], fixarea montajului în interiorul capsulei nu a fost necesară.



Figura 3.1.1: Reprezentarea grafică a procedurii și montajului experimental folosind LDC-ul. (a) Expunerea la radiație laser a soluțiilor fenotiazinice în volum de ordinul mililitrilor. (b) Microtuburile de centrifugă umplute cu soluții neiradiate și iradiate, plasate într-un suport pentru microtuburi și montate pe o platformă de aluminiu. Schimbarea treptată a culorii probelor se datorează expunerii la fascicul laser la durate de timp din ce în ce mai lungi. (c) LDC-ul la accelerația gravitațională maximă de 20 g, găzduind aranjamentul experimental instalat pe podea în interiorul unei gondole complet pivotate. N.B.: Scalarea desenului este neproporțională cu montajul integrat în gondolă.

In ceea ce privește studiul de față, gondolele au fost asigurate la extremitatea fiecărui braț pentru a folosi capacitățile maxime oferite de facilitate. Instalația LDC a fost selectată pentru efectuarea acestei investigații datorită diametrului mare care reprezintă un avantaj față de centrifugele standard de laborator, deoarece efectele de forfecare inerțială și Coriolis sunt diminuate, minimizând astfel impuritatea gravitației generate de un sistem rotativ. În vederea realizării experimentului, a fost selectat nivelul hipergravitațional de 20 g, efectuând măsurări și la 1 g pentru control.

Diferiți factori de mediu (e.g. temperatura, umiditatea, radiațiile și gravitația) pot induce modificări la nivel molecular în produsele farmaceutice, proiectul examinând impactul hipergravitației asupra fenotiazinelor neexpuse și expuse la radiație laser pentru a oferi informații despre stabilitatea acestora după episoadele de 20 g.

În cadrul acestui studiu, soluțiile au fost împărțite în trei seturi de probe: (i) control (i.e. necentrifugate, atât neiradiate cât și iradiate), (ii) centrifugate 15 h, respectiv, (iii) 30 h, fiecare set cuprinzând toate combinațiile de tipuri de medicamente, concentrații și timpi de iradiere. Stabilitatea soluțiilor a fost urmărită prin măsurători de pH, spectroscopie UV-Vis-NIR și prin analiză TLC, folosind aceleași echipamente, materiale, metode și parametri ca în subcapitolul 2.1. Măsurătorile de pH și UV-Vis-NIR au fost efectuate pentru probe de control pre- și post-expunere la hipergravitație, în timp ce pentru eșantioanele centrifugate numai după campania LDC, fiind realizată o investigație comparativă între soluțiile necentrifugate și centrifugate. TLC-ul a fost efectuat numai după experimentul LDC, atât pentru eșantioanele de control, cât și pentru cele expuse la centrifugare. Figura 3.1.2 prezintă seturile de probe și tipurile de analize, urmărind etapele și cronologia studiului.



Figura 3.1.2: Reprezentarea schematică a procedurii experimentului de hipergravitație cu soluțiile fenotiazinice în volum de ordinul mililitrilor. Cronologia ilustrează etapele studiului împreună cu seturile asociate de probe și tipurile de analize. Fiecare set de probe cuprinde toate combinațiile de tipuri de medicamente (CPZ, PZ, PMZ și TZ), concentrații (2 mg/ml și 20 mg/ml) și timpi de iradiere (0 min, 1 min, 15 min, 30 min, 60 min, 120 min și 240 min). \*Datele de pH pre-hipergravitație au fost obținute imediat după procesul de expunere laser. N.B.: Probele de control sunt soluții neiradiate și iradiate, nesupuse condițiilor de hipergravitație (i.e. necentrifugate), iar cele expuse 15 h și 30 h la hipergravitație sunt eșantioane centrifugate la 20 g. Intervalul dintre măsurătorile pre- și post-hipergravitație este de 5 săptămâni.

### Analiza pH

În vederea stabilirii impactului gravitației asupra acidității soluțiilor de fenotiazine neiradiate și iradiate cu fascicul laser UV, concentrația ionilor de hidrogen a fost monitorizată pre- și post-centrifugare. A fost efectuată o comparație între pH-ul probelor înainte și după experimentul de hipergravitație.

Valorile pH-ului cresc ușor după ce soluțiile au fost supuse la 20 g (exceptând TZ-ul la 20 mg/ml), dar există o diferență chiar și între probele de control pre- și post-hipergravitație. În consecință, se poate afirma că această creștere a nivelului de pH, măsurat după experimentul LDC în comparație cu valorile înregistrate înaintea centrifugării, se poate datora fotoprodușilor tranzitorii generați pe parcursul procesului de iradiere (existenți doar la 24 h – 48 h după expunere laser [13,27], raportat în subcapitolele 2.1 și 2.2), și care nu mai sunt prezenți în soluții la momentul măsurărilor efectuate după campanie. Alte explicații pot rezida în faptul că supunerea eșantioanelor la hipergravitație poate acționa reversibil asupra pH-ului sau, pur și simplu, probele fenotiazinice iradiate se degradează în timp (i.e. trec printr-un efect de îmbătrânire și își pierd din aciditate).

### Analiza prin spectroscopie de absorbție UV-Vis-NIR

Spectrele de absorbție UV-Vis reflectă efectul diferitelor condiții gravitaționale asupra soluțiilor de fenotiazine neexpuse și expuse la radiație laser, măsurările fiind efectuate înainte și după campania de centrifugare. Trebuie menționat că scopul principal al acestui studiu nu a constat în investigarea modificărilor induse de procesul de iradiere laser în spectrele de absorbție ale fenotiazinelor (prezentate deja în subcapitolul 2.1), ci mai degrabă, de a oferi informații despre stabilitatea acestora în urma episoadelor de hipergravitație.

O tendință predominantă în rândul probelor de 2 mg/ml rezidă într-o scădere a absorbanței după experimentul LDC, spre deosebire de măsurările realizate înainte de acesta. La eșantioanele de 20 mg/ml, s-a observat, în general, o evoluție hipercromică a absorbanței în urma centrifugării.

In ceea ce privește expunerea la hipergravitație a soluțiilor fenotiazinice neiradiate și iradiate cu fascicul laser, s-au constatat variații minore ale absorbanței pentru probele centrifugate, fără formarea de noi maxime și/sau benzi. În plus, o ușoară deplasare spre albastru a fost observată în spectrele eșantioanelor de 2 mg/ml neiradiate și centrifugate, comparativ cu cele de control măsurate înainte și după campania LDC. Cu toate acestea, este important de menționat că și absorbanța soluțiilor de control post- hipergravitație a suferit deplasări hipo- sau hipercromice în contrast cu spectrele probelor necentrifugate înregistrate înaintea experimentului la 20 g. De asemenea, expunerea la hipergravitație a dus la apariția de puncte isosbestice progresive în unele probe de 20 mg/ml iradiate timp îndelungat. O explicație poate rezida în faptul că, în intervalul de timp dintre măsurările pre- și post-hipergravitație, pot apărea efecte de îmbătrânire chiar și în soluțiile fenotiazinice de control care nu sunt supuse condițiilor de gravitație crescute.

### Analiza TLC

Evaluarea soluțiilor fenotiazinice neiradiate și iradiate cu fascicul laser supuse la 20 g a fost posibilă și cu ajutorul analizei imaginilor obținute prin tehnica TLC. După experimentul LDC, numai probele la concentrația de 20 mg/ml au permis observarea și compararea directă a fotoprodușilor generați prin expunerea la radiație laser UV a substanțelor parentale. Asemenea analizei TLC efectuate în condițiile gravitaționale terestre din subcapitolul 2.1, probele la 2 mg/ml s-au dovedit a conține fotoproduși la concentrații prea scăzute, neputând fi, prin urmare, vizualizate și cuantificate prin această metodă.

Metoda TLC a facilitat identificarea calitativă a fotoprodușilor sau claselor de fotoproduși cu aceeași polaritate. În cazul CPZ-ului apar opt produși, la PZ cinci, la PMZ șapte și în cazul TZ-ului cinci, toți fiind mai polari decât compușii lor parentali, cu excepția unui produs al PMZ-ului care este mai puțin polar decât substanța inițială. Trebuie menționat că valorile Rf ale produșilor cresc odată cu timpul de developare. De asemenea, este de precizat că valorile Rf sunt identice pentru fotoprodușii eșantioanelor centrifugate cu cele de control, fiind furnizate în figura 2.1.4 din subcapitolul 2.1. În plus, se poate observa că substanțele parentale nu s-au fotodegradat în întregime după finalizarea procesului de expunere la radiație laser și încă există în soluțiile de 20 mg/ml. Rezultatele legate de procesul de supunere a probelor la condiții de hipergravitație nu au evidențiat diferențe în ceea ce privește numărul de fotoproduși și intensitatea acestora în comparație cu cele necentrifugate. În consecință, este de reținut că centrifugarea la 20 g nu conduce la modificări în soluțiile fenotiazinice detectabile prin metoda TLC.

### Concluzii

Factorii de mediu extremi întâlniți în spațiul extraterestrial, inclusiv diferite condiții gravitaționale (i.e. hipergravitație), pot compromite stabilitatea medicamentelor, ceea ce poate duce la pierderea eficacității acestora. Prin urmare, în acest subcapitol a fost raportat efectul gravitației ridicate asupra soluțiilor fenotiazinice neiradiate și iradiate cu fascicul laser UV, accentul punându-se pe stabilitatea proprietăților fizicochimice și spectrale ale compușilor. Studiul a arătat stabilitatea probelor după ce au fost supuse la o accelerație gravitațională de 20 de ori mai mare decât cea experimentată pe Pământ, nefind evidențiate modificări semnificative între eșantioanele de control și cele expuse la hipergravitație chiar și la câteva săptămâni de la încheierea procedurii de centrifugare. Motivul stabilității probelor după expunerea la fascicul laser și hipergravitație se datorează cel mai probabil: (i) stabilizării fotoprodușilor generați în soluții prin procese de recombinare care au loc imediat după iradierea laser (i.e. primele 24 h – 48 h), cu mult înainte de centrifugare și (ii) mișcării browniene în soluțiile medicamentoase care le omogenizează conținutul.

S-a dovedit că pH-ul probelor nu a arătat modificări semnificative în funcție de nivelul gravitației, atunci când a fost măsurat după campania LDC. Cu toate acestea, a fost înregistrată o ușoară variație a absorbanței când au fost comparate eșantioanele necentrifugate și cele centrifugate prin spectroscopie UV-Vis-NIR. Analiza TLC nu a indicat nicio diferență în numărul de fotoproduși generați și separați între probele păstrate în condiții terestre și cele supuse unui mediu gravitațional ridicat. Acestea sunt constatări pozitive, având în vedere posibila folosire a acestor soluții în viitoare misiuni spațiale.

### 3.2 Influența hipergravitației asupra suprafețelor permeabile impregnate cu picături de fenotiazine iradiate laser

Textilele functionalizate, cum ar fi cele cu activităti antimicrobiene, au un potential ridicat în vederea dezvoltării de materiale multifuncționale avansate, care le-ar putea revoluționa aplicațiile ulterioare. Prin urmare, în prezentul studiu, o țesătură de bumbac standard a fost impregnată cu picături care conțin soluții fenotiazinice neiradiate și iradiate laser pentru a obține textile încărcate cu agenți anti-microbieni. Multifunctionalitatea tesăturilor s-ar putea dovedi utilă în cazul misiunilor spațiale de lungă durată pentru asistență medicală în rândul astronauților sau decontaminarea suprafețelor de la bordul navelor spațiale. Cu toate că aceste textile ar fi implementate cel mai probabil în microgravitatie, ele sigur ar tranzita conditii de hipergravitație, la lansare de exemplu. De aceea, cercetările efectuate în regim de hipergravitație sunt relevante înainte de folosirea acestor materiale în timpul misiunilor, chiar dacă trecerea printr-un astfel de mediu gravitațional este doar de scurtă durată, datele din secțiunea de față constituind primul pas către investigații mai complexe. In acest subcapitol sunt prezentate procesele de absorbție a picăturilor fenotiazinice în țesătură, care a avut loc în condiții de hipergravitație. Probele obținute în cadrul experimentului LDC au fost analizate prin microscopie de fluorescentă, astfel fiind evidentiate diferentele între zonele neimpregnate si cele impregnate. De asemenea, rezultatele au arătat o schimbare progresivă a culorii textilului impregnat odată cu creșterea timpului de iradiere a soluțiilor de fenotiazine. Secțiunea de față conține informații din raportul proiectului ESA [40].

#### Procedura experimentală

Figura 3.2.1 prezintă procedura și configurația experimentală folosite în cazul suprafeței țintă impregnată în vederea supunerii ulterioare la condiții de hipergravitație în cadrul proiectului SYT. Pe țesătura studiată au fost aplicate picături de fenotiazine care conțineau soluții neexpuse și expuse la fascicul laser. Pregătirea eșantioanelor a presupus dizolvarea pulberilor de CPZ, PZ, PMZ în apă ultra-pură la o concentrație de 20 mg/ml (materialele și procedura de preparare conform subcapitolului 2.1). Etapa următoare, ilustrată schematic în figura 3.2.1(a), a implicat iradierea probelor la 266 nm până la 4 h (protocolul de iradiere în concordanță cu subcapitolul 2.1).

Suprafața țintă a constat dintr-o țesătură standard, netratată, de bumbac 100 % (materialul și procedura de curătare identice cu cele din subcapitolul 2.3), secționată în bucăti și plasată pe un suport tip ramă utilizat pentru întinderea acestora. Fiecare bucată de textil conținea o matrice cu șapte locașuri într-o coloană pentru un tip de medicament la toti timpii de iradiere (figura 3.2.1(b)), în total 21 de locasuri pentru cele trei medicamente. La alegerea dimensiunii segmentelor de bumbac și a volumului picăturilor depuse pe țesătură s-a ținut cont și de diametrul unei picături sferice ideale, ceea ce în cazul volumului de 2 µl este 1,56 mm, iar pentru 10 µl este 2,68 mm. Volumul de 2 µl a fost folosit ca punct de plecare, fiind cel utilizat la studiul umectabilității suprafețelor în condiții gravitaționale terestre din subcapitolul 2.3. Luând în considerare diametrul de umectare maxim < 2.8 mm pentru o picătură fenotiazinică la concentrația de 20 mg/ml si la volumul de 2 µl în 1 g (rezultate descrise în subcapitolul 2.3), fiecărui locaș de 20 mm  $\times$  20 mm i-a fost desemnată o picătură de 10 µl, impregnarea zonelor corespunzătoare fiind realizată înaintea centrifugării. De asemenea, este important de avut în vedere și durata procesului de absorbție a picăturilor medicamentoase în textile, ceea ce pentru bumbac și poliester în condiții gravitaționale terestre s-a desfășurat într-un interval de timp scurt, < 0.1 s (rezultate din subcapitolul 2.3). Prin urmare, acest studiu preliminar se poate dovedi util deoarece timpul de la lansare până la orbită durează  $\approx 8$  min, conform NASA, timp în care se pot produce modificări în soluțiile fenotiazinice și tesăturile impregnate cu acestea.

Totodată, trebuie precizat faptul că suprafețele au fost lăsate să se usuce și doar după aceea supuse la nivelul de hipergravitație de 20 g timp de 15 h, respectiv 30 h. Ramele de susținere au fost montate pe o platformă de aluminiu împreună cu un capac detașabil utilizat pentru protejarea probelor fotosensibile. Montajul a fost instalat pe podeaua unei gondole în vederea realizării geometriei optime a LDC-ului (figura 3.2.1(c)), fără a fi necesar ancorarea acestuia, exact ca în cazul experimentului raportat în subcapitolul 3.1. Gondolele au fost asigurate la extremitatea fiecărui braț, asemenea studiului din secțiunea anterioară, pentru a folosi capacitățile maxime oferite de facilitate.



Figura 3.2.1: Reprezentarea grafică a procedurii și aranjamentului experimental implementat în cadrul facilității LDC. (a) Iradierea soluțiilor de fenotiazine în volum de ordinul mililitrilor cu fascicul laser UV. (b) Suprafața țintă de bumbac întinsă pe un suport tip ramă, impregnată cu picături de 10 µl conținând soluții neiradiate și iradiate, montat ulterior pe o platformă de aluminiu. Creșterea timpului de expunere la fascicul laser induce schimbarea treptată a culorii probelor. (c) Facilitatea LDC la accelerația gravitațională maximă de 20 g cu montajul experimental poziționat pe podea în interiorul unei gondole complet pivotate. N.B.: Scalarea desenului este neproporțională cu montajul integrat în gondolă.

În cadrul acestui studiu, țesăturile de bumbac au fost împărțite în două seturi de eșantioane: (i) centrifugate 15 h și (ii) centrifugate 30 h, fiecare set cuprinzând probe din toate tipurile de medicamente și timpi de iradiere la concentrația de 20 mg/ml. Textilele centrifugate, impregnate cu picături fenotiazinice, au fost examinate sub un microscop optic (Imager Z1m, Zeiss) echipat cu o cameră de rezoluție înaltă (AxioCam MRc 5, Zeiss). Țesăturile au fost studiate folosind un obiectiv de magnificare de  $5 \times$  cu dimensiunea pixelilor de 1,05 µm. În modul de epifluorescență, pentru filtrarea radiației emisă de o sursă UV (lampă cu mercur), se utilizează un filtru cu o bandă de excitație între 300 nm – 390 nm (maximul la 365 nm). Microscopul folosește un divizor de fascicul de tip filtru taie-jos care are transmisia > 395 nm și banda de emisie în domeniul spectral 420 nm – 900 nm.

Este de precizat că vizualizările au fost efectuate doar după finalizarea experimentului LDC. Mai întâi a avut loc inspecția probelor în incinta TLC (echipament prezentat în subcapitolul 2.1), urmată de analiza microscopică. Figura 3.2.2 prezintă seturile de eșantioane și tipurile de examinări, urmărind etapele și cronologia studiului. Trebuie menționat că în cele ce urmează, vor fi prezentate doar rezultatele obținute în cazul țesăturilor centrifugate 30 h, nefind observate diferențe între cele două probe supuse la 20 g (centrifugate 15 h vs 30 h).



Figura 3.2.2: Reprezentarea schematică a procedurii experimentului de hipergravitație cu picături microvolumetrice care conțin soluțiile fenotiazinice impregnate în suprafețele textile. Cronologia ilustrează etapele studiului împreună cu seturile asociate de probe și tipurile de analize. Fiecare set de probe cuprinde țesătura de bumbac impregnată cu toate combinațiile de tipuri de medicamente (CPZ, PZ și PMZ) și timpi de iradiere (0 min, 1 min, 15 min, 30 min, 60 min, 120 min și 240 min). N.B.: Probele expuse 15 h și 30 h la hipergravitație reprezintă suprafețe țintă (impregnate cu soluții neiradiate și iradiate) centrifugate la 20 g.

### Analiza microscopică de epifluorescență

Ca o etapă intermediară, între centrifugarea probelor și analiza microscopică, textilele impregnate cu picături de medicamente au fost vizualizate sub radiație UV emisă la 254 nm, respectiv 366 nm.

Etapa următoare a constat în analiza suprafeței țintă respective prin microscopie epifluorescentă. Imaginile astfel obținute au evidențiat modificări de culoare a textilului impregnat cu picături fenotiazinice în comparație cu bumbacul curat, de culoare turcoaz închis cu fibrele din stratul superior gri-albăstruie.

Figura 3.2.3 prezintă zonele impregnate ale bumbacului cu picături de CPZ care conțin soluțiile neiradiate și iradiate, imaginile din prima coloană fiind capturate la interfața picăturilor, iar a doua coloană în centrul picăturilor. La prima coloană, partea stângă a imaginii este zona curată a țesăturii, iar partea dreaptă arată marginea picăturilor. Se poate observa o diferență pronunțată între regiunile curate și cele impregnate ale suprafeței, schimbarea devenind mai vizibilă pe măsură ce timpul de expunere la radiație laser crește. În particular, culoarea eșantionului iradiat 2 h evoluează în verde-maroniu la interfața picăturii din culoarea turcoaz deschis a probei neiradiate și în verde în mijlocul picăturii din turcoaz închis, astfel obținându-se o deplasare spre roșu, în concordanță cu studiile de fluorescență indusă laser (LIF) pentru CPZ [11,14].

Figura 3.2.4 ilustrează în același mod imaginile capturate atât la interfața, cât și în centrul picăturilor PZ plasate pe bumbac. Soluția neiradiată prezintă o culoare verde-gălbui la marginea picăturii și verde-portocaliu în centrul acesteia, căpătând o culoare verde deschis, respectiv verde închis odată cu creșterea intervalului de timp de expunere laser până la 4 h. Prin urmare, în cazul PZ-ului are loc o deplasare spre lungimi de undă mai mici. Într-adevăr, analiza LIF din [14] a evidențiat prezența a trei benzi în spectrul de fluorescență, primul având o deplasare hipsocromică în decursul iradierii.

Legat de PMZ, figura 3.2.5 indică o trecere de la culoarea portocalie la verde închis și apoi la verdealbăstrui pe măsură ce timpul de expunere laser avansează până la 4 h, arătând o deplasare spre lungimi de undă mai mici, similar cazului soluției de PZ.



Figura 3.2.3: Imaginile de microscopie fluorescentă a țesăturii impregnate cu picături de CPZ și expuse la hipergravitație. Evoluția suprafeței de bumbac la interfața picăturilor (prima coloană) și în mijlocul picăturilor (a doua coloană), în ambele cazuri cu probe conținând soluțiile de 20 mg/ml neiradiate și iradiate laser. Scala: 200 µm.



Figura 3.2.4: Imaginile de microscopie de fluorescență a textilului impregnat cu picături de PZ și supus la hipergravitație. Evoluția țesăturii de bumbac la interfața picăturilor (prima coloană) și în mijlocul picăturilor (a doua coloană), în ambele cazuri cu probe conținând soluțiile de 20 mg/ml neexpuse și expuse laser. Scala: 200 µm.



Figura 3.2.5: Imaginile de microscopie fluorescentă a țesăturii impregnate cu picături de PMZ și expuse la condiții de 20 g. Evoluția suprafeței de bumbac la interfața picăturilor (prima coloană) și în mijlocul picăturilor (a doua coloană), în ambele cazuri cu probe conținând soluțiile de 20 mg/ml neiradiate și iradiate laser. Scala: 200 µm.

Schimbarea culorii bumbacului impregnat cu picături de fenotiazine care conțin soluții iradiate la timpi din ce în ce mai îndelungați poate fi explicată și prin corelarea cu scăderea intensității și stingerea semnalului LIF [14]. În timpul înregistrării imaginilor, s-a observat că textilul impregnat cu picături fenotiazinice a prezentat o modificare continuă în culoare în decursul vizualizării sub lumina UV a microscopului. La finalul investigațiilor (în incinta TLC și sub microscop), zonele țesăturii care conțineau picăturile de CPZ, PZ și PMZ s-au întunecat (observabil cu ochiul liber), care poate fi cauzată în principal de expunerea la radiație UV a medicamentelor fotosensibile în timpul studiilor, ceea ce degradează în continuare probele.

### Concluzii

In cadrul acestui subcapitol au fost investigate suprafețe de bumbac impregnate cu picături care conțin soluții fenotiazinice neiradiate și iradiate cu fascicul laser și supuse ulterior la condiții de hipergravitație. Rezultatele obținute au accentuat, pe de o parte, diferențele între zonele neimpregnate și impregnate. Pe de altă parte, au evidențiat o schimbare treptată a culorii bumbacului impregnat odată cu creșterea timpului de expunere a soluțiilor la radiație laser UV. Se are în vedere pentru studii viitoare pregătirea și analiza unor textile de control pentru a fi comparate cu probele obținute în cadrul experimentului LDC, la 20 g. Astfel de rezultate ar putea sublinia diferențele dintre suprafețele necentrifugate și cele centrifugate. Chiar și așa, datele ar putea oferi numai informații calitative, de aceea un pas necesar în continuarea investigațiilor implică expunerea la o lungime de undă cât mai apropiată de excitația maximă la microscop a soluțiilor medicamentoase utilizate în cadrul proiectului SYT. O opțiune convenabilă ar reprezenta a treia armonică a fasciculului fundamental al laserului pulsat de Nd:YAG, emis la 355 nm. Astfel de date suplimentare ar putea facilita înțelegerea interacției dintre soluții modificate cu laser și suprafețe țintă permeabile. Un alt experiment viitor ar putea consta din colectarea de spectre LIF, cu ajutorul unei fibre optice, în timpul examinării sub microscop a țesăturilor impregnate cu agenți fotosensibili, obținându-se în acest fel și informații cantitative.

### 3.3 Influența hipergravitației asupra interacției picăturilor de fenotiazine iradiate laser cu suprafețe permeabile și impermeabile

În cadrul acestui subcapitol a fost studiat efectul hipergravitației asupra proprietăților de udare ale picăturilor care conțin apă ultrapură, soluție de CPZ neiradiată și soluție de CPZ iradiată cu fascicul laser, urmărind evoluția unghiurilor de contact și a diametrelor de umectare pe suprafete tintă precum bumbac, cărbune medicinal, aluminiu și Parafilm M. S-a observat faptul că odată cu creșterea nivelului de gravitație are loc o scădere a valorilor unghiurilor de contact. De asemenea, picăturile de medicamente, atât cele neiradiate, cât și iradiate, posedă proprietăți de udare favorabile în comparație cu apa ultrapură în cazul tuturor suprafețelor. În unele situații, soluția iradiată laser s-a dovedit că are proprietăți mai bune decât cea neiradiată. Mai mult decât atât, în urma experimentului LDC s-a remarcat că interacția picăturilor cu suprafețele țintă este dominată de un proces dinamic care se manifestă prin oscilația picăturilor. O constatare surprinzătoare a rezidat în faptul că măsurările de unghi de contact au pus în evidentă oscilatiile apărute în imaginile înregistrate. Trebuie mentionat că volumul la care picătura suspendată s-a detasat de pe capilar a scăzut pe măsură ce accelerația gravitațională a crescut, iar diminuarea volumului picăturii a fost acompaniată de o reducere a amplitudinii oscilațiilor. Mai mult decât atât, s-a arătat că un nivel de gravitație mai ridicat determină o creștere a frecvenței de oscilație. Datele obținute au fost comparate atât în funcție de tipul soluției, cât și de nivelul de gravitație. Sectiunea de fată contine informații din raportul proiectului ESA [40] și rezultate publicate în lucrarea Simon et al., Interaction of laser exposed non-antibiotic solutions with target surfaces in hypergravity conditions: ESA "Spin Your Thesis!" campaign, Proc. ESA, Symposium on Space Educational Activities, Padova, Italy, 2015 [42] și în capitolul de carte Simon et al., Microvolumetric droplets in air in hypergravity conditions, Laser Optofluidics in Fighting Multiple Drug Resistance, Bentham Science Publisher, 428-445, 2017 [43].

### Procedura experimentală

Capacitatea de umectare în condiții de hipergravitație a fost investigată pentru soluțiile de CPZ neiradiate și iradiate laser 4 h, preparate la 20 mg/ml conform protocoalelor din subcapitolul 2.1. Apa ultrapură, solventul soluțiilor medicamentoase, a fost de asemenea studiată ca probă de control.

Materialele din cadrul campaniei LDC au constat atât din suprafețe hidrofile, precum bumbac 100 % standard netratat (wfk-Testgewebe) pregătit ca în secțiunea 2.3, cărbune medicinal (Biofarm), aluminiu (prelucrat din material standard), cât și hidrofobe, cum ar fi Parafilm M (Bemis Company).

Au fost fabricate trei discuri de aluminiu ca suport și încă un inel suplimentar de aluminiu cu scopul de a întinde și fixa unele suprafețe țintă, concepute pentru cazuri particulare. Procesul de prelucrare a primului disc, care a servit drept țintă, a constat într-o primă etapă din șlefuirea cu carbură de siliciu depusă pe suport de alamă, urmată în a doua etapă de finisarea cu oxid de aluminiu pe suport textil. Pentru cărbunele medicinal a fost proiectat special un al doilea disc astfel ca pastilele cu diametrul de 12,3 mm și grosimea de 4 mm să fie plasate în cavitățile frezate. Bumbacul și Parafilmul M au fost secționate în prealabil în bucăți circulare cu diametrul de 100 mm. Următorul pas a presupus întinderea bumbacului ori aderarea Parafilmului M pe un al treilea disc neprelucrat și apoi acoperit cu un inel special proiectat.

Inelul de aluminiu îndeplinea două roluri: pe de o parte facilita întinderea și/sau fixarea suprafețelor, și pe de altă parte funcționa ca separator între picăturile sesile adiacente pentru evitarea căderii repetate a picăturilor pe aceeași poziție, permițând în același timp iluminarea și vizualizarea zonei de interacție. Canalul interior subțire asigura trecerea capilarului între zonele de interacție învecinate. Cele 12 cavități, respectiv zonele de separare, au fost concepute pentru realizarea a 12 măsurări pe același material folosind aceeași soluție fără a opri instalația LDC. Figura 4.3.2 prezintă integrarea suporturilor în montajul experimental și umectarea în timp real a suprafețelor țintă studiate sub efectul hipergravitației.



Figura 3.3.1: Implementarea diferitelor ținte în timpul experimentului de hipergravitație. Suprafețele de (a) aluminiu, (b) cărbune medicinal și (c) bumbac (alternativ Parafilm M) vizualizate în interiorul unei gondole LDC. N.B.: Discul creat pentru pastilele de cărbune și inelul pentru materialele de bumbac și Parafilm M au fost vopsite negru cu scopul de a evita reflexiile și împrăștierile luminii nedorite în timpul măsurărilor.

Unul dintre criteriile de selecție pentru suprafețele țintă s-a bazat pe materiale în principal utilizate în tratamente medicale. Odată impregnat cu soluții farmaceutice, bumbacul poate fi considerat ca un sistem de administrare a medicamentelor în cazul leziunilor de la suprafața pielii. O altă aplicație a bumbacului implică bio-curățarea pereților și componentelor navelor spațiale de agenți patogeni prin simpla ștergere a acestora. Cărbunele activ poate fi folosit în cazul astronauților ca medicament în sine, dar și pentru a absorbi umiditatea prezentă la bord. Un alt criteriu de selecție a luat în considerare materialele implementate în cadrul aplicațiilor spațiale, aluminiul fiind esențial în construcția navetelor și echipamentelor, iar Parafilmul M putând mima suprafețele cablurilor și tubulaturilor regăsite la bord. Materialele aflate în componența vehiculelor spațiale pot fi infectate cu bacterii și/sau fungi, iar formarea de biofilme poate constitui de asemenea un risc major, decontaminarea acestora fiind necesară în decursul misiunilor de lungă durată.

Interacția picăturilor cu suprafețe țintă a fost investigată prin generarea picăturilor suspendate și măsurarea unghiurilor de contact, respectiv a diametrelor de umectare, utilizând tehnica picăturii sesile formată la interfața lichid – solid – aer. Măsurările au fost realizate în timp real în hipergravitație cu ajutorul unui montaj experimental dezvoltat special pentru proiectul SYT.

Primul pas a constat în generarea de micropicături suspendate prin intermediul unei pompe cu seringă compactă (75900-00, Cole-Parmer) controlată de la distanță printr-un program dedicat. Soluțiile studiate au fost păstrate într-o seringă etanșă (1710 LT, Hamilton) de sticlă borosilicată de 100 µl cu vârf Luer, având pistonul din oțel inoxidabil și vârful pistonului din politetrafluoroetilenă. Efectul de inerție a fluidului depinde semnificativ de dimensiunea pistonului, viteza de pompare și compresibilitatea fluidului, putându-se manifesta prin scurgerea sau reabsorbția lichidului. Pentru a evita aceste fenomene a fost intercalată între seringă și capilar o electrovalvă (6650, Bürkert) cu diametrul nominal de 0,4 mm și cu o funcție 2/2 căi, cuplată pe o singură cale. Capilarul a constat dintr-un tub de oțel inoxidabil (90134, Hamilton) cu diametrul extern de 0,72 mm și intern de 0,41 mm cu conexiune Kel-F din plastic clorotrifluoretilenă. Componentele menționate mai sus au fost interconectate prin intermediul adaptorilor Luer (Hamilton). Pentru a controla de la distanță valva a fost folosit un dispozitiv digital I/O configurabil (USB-6501, National Instruments), împreună cu un circuit electronic dezvoltat pentru experimentul LDC. Subsistemul de dozare, proiectat din componente interschimbabile, a facilitat implementarea diferitelor soluții de lucru.

Odată ce picăturile de apă și cele fenotiazinice au fost generate, detașarea lor de pe capilar a avut loc din cauza condițiilor de gravitație ridicată, ajungând astfel în contact fizic cu suprafața țintă sub formă de picături sesile. Interacția s-a produs într-o incintă etanșă de poli(metacrilat de metil), ilustrată în figura 3.3.1. În vederea obținerii unei iluminări adecvate a zonei de interacție a fost integrat un filtru optic mat în fața sursei de lumină, iar pentru o vizualizare corespunzătoare a fost introdusă o sticlă optică în fața camerei de mare viteză. De asemenea, trebuie precizat că interschimbarea țintelor a fost posibilă prin implementarea unui sistem de șine care a permis deschiderea incintei. Incinta de interacție a fost utilizată în scopul de a genera picături medicamentoase într-un mediu protejat, pentru a se evita răspândirea soluțiilor în interiorul gondolei.

Discurile, respectiv suprafețele, au fost montate pe o platformă de rotație motorizată de precizie (PRM1/MZ8, Thorlabs), acționată de un servomotor DC (TDC001, Thorlabs) cu o viteză de 25 grad/s și o rezoluție de 1 arcsec pe întregul plan de rotație de 360°, obținându-se o mișcare lină și continuă, care a permis controlul automat al platformei prin intermediul programului Advanced Positioning Technology (Thorlabs). Țintele au fost împărțite în 12 sectoare de cerc identice, o rotație de 30° a discului fiind necesară pentru a ajunge în poziția potrivită (i.e. locul interacției picăturii cu suprafața). Prin urmare, s-au realizat 12 măsurări (câte trei la fiecare nivel de hipergravitație propus) pe același material cu aceeași soluție, fără a fi nevoie de a opri LDC-ul. Procesul de generare a picăturii a început după ce discul s-a mutat în poziția corespunzătoare, urmând detașararea și contactul cu un segment curat al suprafeței.

O cameră de mare viteză (Phantom Miro 3, Vision Research), suportând niveluri ridicate de gravitație de până la 100 g, a fost utilizată pentru a înregistra generarea și comportamentul micropicăturilor, impactul, precum și interacția acestora cu țintele studiate. Senzorul CMOS are dimensiunea de 17,6 mm  $\times$  13,2 mm și mărimea pixelilor de 22 µm, furnizând o rezoluție maximă de 800 px  $\times$  600 px (1200 cadre/s) și o viteză de înregistrare maximă de 111 111 cadre/s (32 px  $\times$  16 px). Deoarece se aștepta ca la hipergravitația maximă procesul de absorbție a picăturilor medicamentoase în materialele permeabile (i.e. bumbac și cărbune) să aibă loc la o rată ridicată, s-a preferat o viteză de înregistrare mare de 1800,18 cadre/s, rezultând astfel un timp de 555,5 µs între două cadre consecutive. O rezoluție cât mai bună era de asemenea esențială pentru analiza ulterioară a imaginilor, și de aceea trebuia făcut un compromis, o rezoluție de 600 px  $\times$  320 px fiind asociată vitezei de înregistrare respective. Pentru achiziția și prelucrarea datelor video, a fost folosit programul Phantom Camera Control 2.6 (Vision Research).

În vederea asigurării unui contrast bun între picătură și fundal, probele au necesitat o iluminare adecvată. Scenariul de iluminare (configurație similară cu cea din subcapitolul 2.3) a constat în poziționarea în fața camerei a unei surse de lumină cu LED-uri (LIU 004, Thorlabs) cu o intensitate de 1700  $\mu$ W/cm<sup>2</sup>, un curent maxim de 100 mA și o tensiune de alimentare maximă de 24 V, producând-se astfel o siluetă întunecată a picăturilor pe un fundal gri deschis. Pentru a beneficia de o lumină difuză, au fost utilizate filtre optice mate, plasate în monturi (CP03/M, Thorlabs) cu apertura de 35 mm. Monturile au fost integrate într-o structură de translație longitudinală de tip șină, în fața sursei de lumină, pentru a realiza o configurație ușor adaptabilă, necesară pentru diferite condiții de iluminare.

După campania de hipergravitație, imaginile obținute au fost analizate cu programul ADVANCE (KRÜSS). În prima fază s-a stabilit timpul de impact asociat picăturilor, urmată de definirea liniei de bază între picăturile sesile și suprafețele țintă, faza finală constând în fitarea conturului picăturii cu metoda elipsă și colectarea datelor de unghi de contact și diametru de umectare.

Figura 3.3.2 descrie procedura și configurația experimentală utilizate în condiții de hipergravitație în cazul picăturilor pe bază de soluții de fenotiazine neiradiate și iradiate laser în interacție cu suprafețe țintă permeabile și impermeabile în cadrul proiectului SYT. Soluția de CPZ a fost expusă la fascicul laser înainte de campania de hipergravitație (proces prezentat schematic în figura 3.3.2(a)), proba astfel obținută fiind încărcată în seringă și folosită în aranjamentul experimental dezvoltat pentru investigația interacției acesteia cu suprafețe țintă în condiții de hipergravitație (figura 3.3.2(b)). Este de specificat faptul că pe lângă eșantionul iradiat s-au testat atât soluția neiradiată cât și solventul, seringile umplute cu fiecare lichid fiind interschimbate după un set de măsurări efectuate la 2 g, 5 g, 10 g și 20 g. Pentru studii comparative, au fost realizate ulterior măsurări și la 1 g. Componentele montajului au fost fixate pe o platformă de aluminiu de 450 mm × 500 mm, fiecare gondolă suportând o masă maximă de 80 kg, cu un spațiu de lucru interior de 500 mm × 500 mm × 720 mm [41]. La proiectare s-a luat în considerare o distribuție echilibrată a masei elementelor plasate pe platformă. Configurația experimentală de  $\approx 15$  kg a fost instalată pe podeaua unei gondole fără nici un fel de ancorare (figura 3.3.2(c)), analog subcapitolelor 3.1 și 3.2.



Figura 3.3.2: Reprezentarea grafică a procedurii și aranjamentului experimental montat în instalația LDC. (a) Expunerea la radiație laser a soluțiilor de fenotiazine în volum de ordinul mililitrilor. (b) Montajul utilizat pentru studierea interacției unei picături conținând soluția de lucru cu o suprafață țintă, cuprinzând componentele de observare – iluminare, montate pe o platformă de aluminiu. Picătura suspendată este detașată sub influența gravitației, formând o picătură sesilă pe suprafață. Interacția picătură – suprafață are loc în incinta albastră pentru prevenirea răspândirii soluțiilor în interiorul gondolei. (c) LDC-ul la 20 g, cu ansamblul experimental instalat pe podeaua unei gondole complet pivotate. N.B.: Scalarea desenului este neproporțională cu montajul integrat în gondolă.

Figura 3.3.3 prezintă integrarea experimentului SYT într-una din gondolele centrifugii. În imaginea de ansamblu se poate observa instalația LDC cu gondola de lucru în prim-plan și cu Paxi (mascota ESA) pe fundal în gondola centrală, așteptând pornirea experimentului (figura 3.3.3(a)). Aranjamentul experimental propriu-zis este prezentat cu toate componentele principale și accesoriile auxiliare (figura 3.3.3(b)).



Figura 3.3.3: Aranjamentul experimental integrat în interiorul unei gondole, pregătit pentru a fi accelerat până la 20 g. (a) Imaginea de ansamblu a montajului plasat în interiorul unei gondole a LDC-ului. (b) Configurația experimentală cu toate componentele: sistem de generare picături, platformă de rotație (cu suprafața țintă de aluminiu montată) în incinta de interacție, cameră de mare viteză, sistem de iluminare, mini PC și accesorii auxiliare (e.g. unități de control, cablaje și surse de alimentare).

Proiectul SYT și-a propus să investigheze influența hipergravitației asupra interacției unui derivat fenotiazinic neexpus și expus la radiație laser cu diferite suprafețe țintă pentru a oferi informații cu privire la comportamentul picăturilor și despre proprietățile de udare a acestora. În cadrul studiului, interacțiile picătură – suprafață au fost împărțite în trei categorii în funcție de: (i) soluția de lucru, (ii) suprafața țintă și (iii) nivelul de gravitație, un set de măsurări la un anumit nivel de gravitație cuprinzând toate combinațiile de tipuri de soluții și tipuri de suprafețe. Variația unuia dintre acești parametri, prin menținerea constantă a celorlalți, a dus la seturi diferite de valori ale unghiurilor de contact și a diametrelor de umectare. Interacțiile în hipergravitație au avut loc în timp real la fiecare nivel menționat, ulterior colectându-se date și în condiții gravitaționale terestre, pentru a se realiza o comparație între cele două configurații. Deoarece imaginile procesului de umectare au fost înregistrate în timp real, post-determinările de unghi de contact și diametre de umectare nu au fost dependente de timp. Figura 3.3.4 prezintă categoriile de probe și tipurile de analize, urmărind cronologia diferitelor etape.



Cronologia experimentului de hipergravitație

Figura 3.3.4: Reprezentarea schematică a procedurii experimentului de hipergravitație cu picăturile microvolumetrice care conțin apă ultrapură și soluții fenotiazinice neiradiate și iradiate în interacție cu suprafețe permeabile și impermeabile. Cronologia ilustrează etapele studiului împreună cu seturile asociate de probe și tipurile de analize. Fiecare set cuprinde interacții cu toate combinațiile de tipuri de soluții (apă ultrapură, CPZ neiradiat și CPZ iradiat 4 h), tipuri de materiale (bumbac, cărbune medicinal, aluminiu și Parafilm M) și niveluri de gravitație (1 g, 2 g, 5 g, 10 g și 20 g). N.B.: Probele de control reprezintă interacții care au avut loc la accelerația gravitațională terestră.

### Analiza dinamicii picăturilor

În urma campaniei LDC a fost constatat un proces dinamic care domină interacția micropicăturilor cu suprafețele țintă. Deși obiectivul proiectului SYT nu a reprezentat studierea comportamentului dinamic, se vor trece succint câteva rezultate și explicații referitoare acestuia. Originea procesului dinamic s-ar putea datora: (i) atât diferiților parametri, cum ar fi accelerația gravitațională, tensiunea superficială, densitatea și vâscozitatea soluțiilor, masa picăturilor, precum și volumul acestora, cât și (ii) vibrațiilor proprii ale LDC-ului, generate la nivelurile de hipergravitație selectate.

Deoarece vibrațiile constituie o parte importantă a dispozitivelor rotative, o atenție sporită a fost acordată limitării acestora în cadrul facilității LDC, luând în considerare o limită superioară de 1,2 V<sub>RMS</sub> pentru echipamentele industriale furnizate în conformitate cu ISO-10816-3/Clasa II. A fost stabilit astfel, pentru 20 g și respectând standardele menționate, un nivel maxim de vibrații de 0,0712 V<sub>RMS</sub> în interiorul unei gondole, precum și 0,12 V<sub>RMS</sub> în cadrul structurii principale a LDC-ului care operează cu întregul set de gondole complet încărcate [44]. În majoritatea testelor de vibrație efectuate la 20 g cu LDC-ul echipat cu cele șase gondole a fost obținută o amplitudine între 0,006 g<sub>RMS</sub> – 0,015 g<sub>RMS</sub> la frecvența de vibrație de 35,63 Hz, conform rapoartelor interne ale ESA.

În lucrările anterioare [45–48], s-a observat că picăturile de lichid în contact parțial cu o suprafață solidă pot manifesta două tipuri distincte de vibrații: (i) vibrații poligonale și (ii) vibrații axi-simetrice. Cele poligonale au fost constatate în cazul picăturilor aplatizate datorită gravitației, care au adoptat forme poligonale în timpul evaporării rapide [45,46]. Anumite studii teoretice au fost efectuate prin neglijarea efectului gravitației [47,49–51], cu toate acestea există diferite aproximări referitoare la vibrațiile picăturilor aplatizate de gravitație [52,53], astfel fiind modificate de la formele hemisferice și cele discoidale. Vibrații similare au fost surprinse și în timpul campaniei LDC. Imaginile capturate în interiorul gondolei au arătat un comportament asemănător cu cele obținute pentru căderea picăturilor de pe un tavan vibrant [54]. De asemenea, atunci când o picătură ajunge în contact prin cădere liberă cu o suprafață solidă există mai multe regimuri de impact: (i) stropire promptă, (ii) stropire în formă de coroană, (iii) împrăștiere de retragere, (iv) ricoșare totală, (v) ricoșare parțială și (vi) depunere. Suprafețele hidrofobe induc mai probabil efectul de stropire, pe când cele superhidrofobe conduc la un efect de ricoșare repetată atunci când se folosesc lichide cu tensiune superficială ridicată. În ceea ce privește suprafețele cu zone atât hidrofobe cât și hidrofile, picătura se va deplasa către zona hidrofilă pentru a reduce energia liberă la suprafață. În anumite condiții, când nu există regimurile de stropire și ricoșare, picătura trece printr-un proces repetitiv de întindere și recul după impact, schimbându-se între o formă discoidală și una hemisferică până la atenuarea oscilațiilor datorită vâscozității [55]. În cazul proiectului SYT doar regimul de depunere a avut loc, picăturile întinzându-se și oscilând pe materialele permeabile și impermeabile. Este important de menționat faptul că vibrațiile s-au produs nu numai în cazul picăturilor sesile, ci și pentru picăturile suspendate.

În ceea ce privește picăturile suspendate, a fost determinată dependența volumului generat față de nivelurile de gravitație. Volumul la care picătura s-a detașat de pe capilar s-a diminuat pe măsură ce accelerația gravitațională a crescut, după cum este evidențiat în figura 3.3.5. O tendință de scădere sigmoidală a caracterizat volumul, indicând un declin de la 6  $\mu$ l – 9  $\mu$ l până la 0,1  $\mu$ l – 0,65  $\mu$ l (în funcție de tensiunea superficială a soluției folosite), când nivelul de gravitație a crescut de la 1 g la 20 g. Tabelul 3.3.1 prezintă valorile diametrelor asociate cu volumul picăturilor suspendate din figura 3.3.5 atunci când se consideră picături sferice ideale.



Figura 3.3.5: Dependența volumului picăturilor în funcție de nivelul gravitațional pentru apa ultrapură, precum și soluțiile de CPZ neiradiate și iradiate laser. N.B.: Volumul picăturilor corespunde valorilor medii asociate celor 12 picături generate cu același lichid la același nivel de gravitație. Bara de eroare: deviația standard pentru un set de date cu 12 valori.

Tabelul 3.3.1: Evoluția diametrelor unei picături sferice ideale în funcție de tipul soluției și nivelul de gravitație. N.B.: Diametrele au fost determinate din valoarile medii asociate volumelor din figura 3.3.5.

Soluție	$egin{array}{c} D \ (1 \ { m g}) \ [{ m mm}] \end{array}$	$egin{array}{c} D & (2   { m g}) \ [{ m mm}] \end{array}$	$egin{array}{c} D & (5   { m g}) \ [{ m mm}] \end{array}$	$D (10  ext{ g}) \ [mm]$	$D (20  ext{ g}) \ [mm]$
Apă ultrapură CPZ neiradiat CPZ iradiat	2,58 2,38 2.36	2,02 1,98 1.84	$1,50 \\ 1,34 \\ 1.34$	$1,16 \\ 1,04 \\ 1.04$	$0,90 \\ 0,74 \\ 0.68$

Referitor la picăturile sesile, evoluția dinamicii a fost urmărită pe două suprafețe permeabile și două impermeabile. Picăturile ajunse în contact cu materialele hidrofile, au prezentat o întindere continuă, dar fiind și absorbite rapid în fibrele bumbacului, respectiv porii cărbunelui.

In cazul țesăturii de bumbac, această evoluție poate fi observată în figura 3.3.6. S-a remarcat faptul că parametrii, cum ar fi volumul picăturii și nivelul de gravitație, influențează puternic timpul de absorbție a picăturilor de CPZ iradiate în fibrele de bumbac. În cazul volumelor mai mari este necesar un interval de timp mai îndelungat pentru a obține absorbția totală comparativ cu volumele mici. Nivelurile ridicate de gravitație, însă, pot facilita absorbția rapidă prin aplatizarea picăturii din cauza forței gravitaționale aplicate. În primele 50 ms de la impactul picăturii cu bumbacul, în funcție de volumul generat și de nivelul de hipergravitație (descreșterea volumului și creșterea accelerației gravitaționale), se poate constatata o scădere a unghiurilor de contact, ceea ce înseamnă o umectabilitate favorabilă a suprafeței. În acest interval de timp, oscilațiile picăturilor se atenuează mai repede la volume mai mici față de cele mari.



Figura 3.3.6: Evoluția în timp a picăturilor de CPZ expuse la radiație laser după impactul cu textilul de bumbac sub efectul diferitelor condiții de gravitație. N.B.: Poate fi observată, pe de o parte, o descreștere a volumului picăturii suspendate înainte de impact, și pe de altă parte, reducerea timpului de absorbție a picăturilor sesile în material odată cu creșterea nivelului de gravitație de la 1 g la 20 g.

Figura 3.3.7 evidențiază modificările comportamentului picăturilor de CPZ iradiate pe diferitele materiale studiate în cadrul campaniei LDC la un nivel de 2 g. Cărbunele medicinal a prezentat o umectabilitate deosebită în primele 100 ms după impactul picăturii. Se poate observa că în intervalul de timp respectiv picăturile de CPZ iradiate posedă proprietăți de umectare favorabile pe cărbune în comparație cu bumbacul, formând unghiuri de contact mai mici pe pastila medicinală decât pe textil. Cu toate acestea, trebuie menționat faptul că umectarea completă a durat secunde, chiar minute, când s-au aplicat picăturile pe cărbune, în timp ce la bumbac a fost obținută în milisecunde. Astfel, unghiurile de contact au prezentat o evoluție constantă pe perioade îndelungate (i.e. de ordinul secundelor) în cazul cărbunelui, în contrast cu scăderea drastică a valorilor pentru țesătura de bumbac.



Figura 3.3.7: Evoluția în timp a picăturilor de CPZ expuse la fascicul laser după impactul cu materialele de bumbac (primul rând), cărbune medicinal (al doilea rând), aluminiu (al treilea rând) și Parafilm M (al patrulea rând), sub efectul condiției de 2 g. N.B.: Poate fi remarcată o umectabilitate favorabilă în cazul suprafețelor permeabile, pe când la țintele impermeabile absorbția este înlocuită de o evaporare lentă a picăturilor.

Legat de suprafețele impermeabile (atât cele hidrofile cât și cele hidrofobe), oscilațiile picăturilor au fost mai pronunțate în primele 50 ms de la impact față de țintele permeabile. Acest comportament diferit este în concordanță cu cele raportate în [55], unde materialele hidrofile au încetinit rapid oscilațiile, în timp ce materialele hidrofobe le mențineau. Chiar dacă pe suprafețele impermeabile oscilațiile sunt mai pronunțate, acestea suferă o amortizare în timp. După amortizarea oscilațiilor, unghiurile de contact evoluează relativ constant în timp, ceea ce se poate datora lipsei procesului de absorbție, așa cum se arată în cazul țintelor de aluminiu și Parafilm M.

### Analiza proprietăților de umectare

In ceea ce urmează vor fi discutate rezultatele privind unghiurile de contact și diametrele de umectare doar pentru suprafețele impermeabile. Trebuie precizat că în cazul materialelor permeabile, programul de analiză prezintă limitări în ceea ce privește recunoașterea profilelor picăturilor, ca urmare nefiind posibilă fitarea. Acest lucru, pe de o parte, se poate datora picăturilor al căror volum se diminuează cu creșterea nivelului de gravitație. În general la măsurări de unghi de contact cu programul ADVANCE (Krüss), se recomandă folosirea unui volum minim de 2 µl, ceea ce în experimentul LDC nu s-a putut atinge. Pe de altă parte, la interacția cu bumbacul nu numai că picăturile erau și mai mici datorită procesului de absorbție, dar fibrele de bumbac îngreunau stabilirea liniei de contact și detectarea profilelor picăturilor. În cazul cărbunelui medicinal de asemenea era dificilă găsirea liniei de bază, deoarece nu se putea distinge picătura întunecată cu contur bine definit de suprafața neagră a pastilei.

Rezultatele obținute pe materialele impermeabile au indicat proprietăți de umectare îmbunătățite în cazul picăturilor fenotiazinice comparativ cu apa ultrapură pentru ambele ținte. Este foarte interesant că măsurările de unghi de contact au evidențiat oscilațiile observate în imaginile înregistrate în timpul experimentului.

O comparație între unghiurile de contact formate la suprafețele țintă impermeabile în funcție de gravitație este prezentată în figura 3.3.8, scoțând în evidență umectabilități diferite. Datorită caracterului hidrofob al Parafilmului M, valorile unghiurilor de contact obținute pe această suprafață sunt mai ridicate față de cele de pe aluminiu. De asemenea, se poate observa în ambele cazuri că odată cu creșterea nivelului de gravitație valorile unghiurilor de contact scad. O altă remarcă este legată de faptul că pe măsură ce nivelul de gravitație crește, amplitudinea oscilațiilor descrește. Mai mult decât atât, un nivel de gravitație mai ridicat determină o creștere a frecvențelor de oscilație.

In ceea ce privește comparația diametrelor de umectare în funcție de nivelurile de gravitație, figura 3.3.9 evidențiază pentru ambele materiale impermeabile o descreștere a valorilor atunci când interacțiile picătură – suprafață au loc la accelerații gravitaționale din ce în ce mai ridicate. Totuși, este de precizat că acest comportament se datorează mai degrabă scăderii volumului picăturilor, accentuată în figura 3.3.5, decât creșterii gravitației, și s-ar putea verifica prin măsurări de diametre de umectare la un singur nivel de gravitație (e.g. 1 g), dar implementând volume variate ale picăturilor. În plus, se poate nota o diferență dintre diametrele de umectare între cele două suprafețe, Parafilmul M având valori mai scăzute în contrast cu aluminiul în cazul celor trei soluții de lucru. Cea mai mare discrepanță s-a constatat pentru apa ultrapură, în timp ce proba de CPZ iradiată a prezentat cele mai apropiate valori.

Legat de creșterea frecvențelor de oscilație (remarcată în figura 3.3.8), se poate vedea în figura 3.3.10 o dependență liniară în funcție de nivelul de gravitație, comportament similar la toate cele trei tipuri de soluții în cazul materialelor impermeabile. Aceste observații implică mai degrabă scăderea de volum a picăturilor, evidențiată în figura 3.3.5, decât creșterea accelerației gravitaționale. Pentru a verifica ipoteza respectivă, se are în vedere efectuarea de măsurări de unghi de contact la 1 g folosind picături cu volume diferite.

Un factor important care influențează dinamica picăturilor este viteza de impact cu suprafețele solide. Trebuie menționat că în studiile terestriale (descrise în subcapitolul 2.3) și cele efectuate în microgravitație (prezentate în subcapitolul 4.2) picăturile au fost aduse ușor în contact cu țintele în contrast cu investigațiile prezente, unde picăturile s-au detașat de pe capilar din cauza accelerației gravitaționale ridicate. Asemenea experimentului de față, și în cel de microgravitație s-au realizat măsurări de unghi de contact de control (i.e. în 1 g), neobservându-se oscilații ale picăturilor, ceea ce sugerează că cele din cadrul proiectului SYT se datorează modului distinct de detașare a picăturilor. Însă, pentru diametre diferite, înălțimea obținută de la polul sud al picăturii până la țintă, variază. Se are în vedere pentru viitor determinarea vitezelor de impact din cadre consecutive, cunoscându-se deplasarea în pixeli și dimensiunea unui pixel împreună cu timpul dintre cadre, deoarece viteza de impact a redus amplitudinea oscilațiilor și a descrescut frecvenței de oscilație. În studiul din [55], o viteză mare de impact a redus amplitudinea oscilațiilor și a descrescut frecvențe acestora.



Figura 3.3.8: Evoluția umectabilității materialelor impermeabile în funcție de nivelul de gravitație la care a avut loc interacția cu soluția de lucru. Unghiurile de contact obținute în cazul interacției de (a) apă ultrapură – aluminiu, (b) apă ultrapură – Parafilm M, (c) CPZ neiradiat – aluminiu, (d) CPZ neiradiat – Parafilm M, (e) CPZ iradiat 4 h – aluminiu și (f) CPZ iradiat 4 h – Parafilm M. Concentrația de medicament: 20 mg/ml.



Figura 3.3.9: Evoluția umectabilității materialelor impermeabile în funcție de nivelul de gravitație la care a avut loc interacția cu soluția de lucru. Diametrele de umectare obținute în cazul interacției de (a) apă ultrapură – aluminiu, (b) apă ultrapură – Parafilm M, (c) CPZ neiradiat – aluminiu, (d) CPZ neiradiat – Parafilm M, (e) CPZ iradiat 4 h – aluminiu și (f) CPZ iradiat 4 h – Parafilm M. Concentrația de medicament: 20 mg/ml.

Timp de interacție [ms]

Timp de interacție [ms]



Figura 3.3.10: Dependența frecvenței de oscilație în funcție de nivelul de hipergravitație la care a avut loc interacția picăturilor cu diferite suprafețe țintă. N.B.: Poate fi observată o dependență liniară, frecvența oscilațiilor crescând cu mărirea vitezei de rotație a LDC-ului.

Deși investigarea comportamentului oscilant nu constituia obiectivul proiectului SYT, datele obținute sunt de interes și prezintă un punct de plecare pentru obținerea în viitor a unor rezultate cuantificabile. În vederea atingerii acestui nou obiectiv vor trebui luați în considerare diferiți parametri, cum ar fi lungimea capilară  $L_c$ (calculată în tabelul 3.3.2 pentru nivelurile de gravitație studiate), numărul Bo, numărul We, etc.

Tabelul 3.3.2: Lungimile capilare determinate atât pentru condiții gravitaționale terestre, cât și de hipergravitație. N.B.: Tensiunile superficiale ale soluțiilor studiate în cadrul proiectului SYT au fost măsurate experimental la 1 atm și 20 °C – 25 °C, valoarea apei ultrapure fiind  $\sigma_{apă} = 72.4 \text{ mN/m}$ , iar a CPZ-ului neiradiat  $\sigma_{CPZneirad} = 39.5 \text{ mN/m}$ . Densitatea soluțiilor de CPZ a fost aproximată cu cea a apei,  $\rho = 997 \text{ kg/m}^3$ . Concentrația de medicament: 20 mg/ml.

Soluție	$L_c (1  ext{ g})  ext{[mm]}$	$L_c (2  ext{ g})  ext{[mm]}$	$L_c (5  ext{ g})  ext{[mm]}$	$L_c (10 \text{ g})$ [mm]	$L_c \ (20  ext{ g}) \  ext{[mm]}$
Apă ultrapură CPZ neiradiat	2,72 2,01	$1,92 \\ 1,42$	$1,22 \\ 0,89$	$0,86 \\ 0,64$	$0,61 \\ 0,45$

#### Concluzii

In cadrul acestui subcapitol au fost studiate, în diferite condiții de hipergravitație, proprietățile de umectare ale soluțiilor de CPZ neiradiate și iradiate 4 h cu fascicul laser emis la 266 nm, precum și ale apei ultrapure, la interacția cu suprafețe țintă de interes medical și tehnologic, prin determinarea unghiurilor de contact și a diametrelor de umectare. Analizele au arătat că odată cu creșterea nivelului de gravitație valorile unghiurilor de contact scad. De asemenea, picăturile fenotiazinice, atât cele neiradiate, cât și iradiate, posedă proprietăți de umectare îmbunătățite față de apa ultrapură în cazul materialelor impermeabile. În majoritatea situațiilor, soluția medicamentoasă iradiată prezintă o capacitate de umectare și mai bună decât cea neiradiată. În plus, rezultatele campaniei LDC au indicat că interacția picăturilor cu suprafețele țintă este dominată de un proces dinamic, manifestându-se prin oscilația picăturilor. Deoarece procesul de generare a picăturilor este dependent de gravitație, scăderea volumului acestora este asociat cu creșterea accelerației gravitaționale. Prin urmare, diminuarea volumului picăturii, cel mai probabil, duce la reducerea amplitudinii oscilațiilor și la creșterea liniară a frecvenței acestora.

Rezultatele obținute în cadrul proiectului SYT, derulat sub egida ESA, indică faptul că parametrii, cum ar fi volumul picăturii și nivelul de gravitație, trebuie să fie luați în considerare [56,57], deoarece ar putea influența măsurările de unghi de contact. În comunitatea științifică, opiniile sunt împărțite cu privire la semnificația efectului volumului picăturilor asupra unghiurilor de contact, unii considerând că unghiul de contact rămâne constant chiar și atunci când volumele picăturilor variază [58], în timp ce alții cred că unghiul de contact se modifică sub un diametru critic [59]. Pentru a înțelege mai bine efectul hipergravitației asupra umectabilității suprafețelor, sunt necesare investigații suplimentare, păstrând constant unul dintre parametrii în timp ce variază celălalt, putând astfel exclude efectul lor cumulativ.

# Capitolul 4

# Soluții de fenotiazine în condiții de microgravitație

Deoarece în spațiul extraterestrial microorganismele pot evolua în forme mai virulente și pot avea o sensibilitate redusă la antibiotice, astronauții pot avea nevoie de tratamente și/sau suprafețele de la bordul stațiilor spațiale pot necesita decontaminare. Implementarea medicamentelor multifuncționale, precum fenotiazinele fotoactive, a fost propusă pentru studiile din cadrul capitolului 4 ca o strategie alternativă în asemenea cazuri, fiindcă inițial acestea acționează ca antipsihotice, iar după expunerea la radiație laser ca agenți antimicrobieni. Însă, înainte de implementare sunt necesare testări în condiții de microgravitație simulată. Proiectul și-a propus să aducă o nouă perspectivă asupra comportamentului picăturilor pe bază de derivat de fenotiazină într-un mediu gravitațional redus având în vedere: (i) expunerea în timp real și modificarea cu fascicul laser UV a picăturilor suspendate și (ii) studierea proprietățile de umectare a picăturilor sesile pe o suprafață țintă de interes medical și/sau tehnologic. De aceea, experimentele au fost efectuate cu un sistem experimental aflat în cădere liberă la Bremen Drop Tower, supunând probele la o accelerație gravitațională comparabilă cu o milionime din cea întâlnită la suprafața Pământului. Cercetările s-au desfășurat în cadrul programului *Drop Tower Experiment Series* (DropTES), sub egida UNOOSA, finanțat de DLR și ZARM.

# 4.1 Influența microgravitației asupra interacției radiației laser cu picături de fenotiazine

După misiunile pe LEO, există initiative pentru explorări de lungă durată a spatiului cosmic îndepărtat (e.g. Luna, Marte). Medicamente multifuncționale și sisteme auxiliare portabile, utilizate pentru a transforma solutii farmaceutice din agenti initiali în agenti finali cu proprietăți si efecte diferite între ei, ar putea deveni componente esențiale ale unor asemenea misiuni îndelungate, unde reaprovizionarea și/sau suportul medical/farmaceutic de pe Pământ nu sunt posibile. Soluțiile de fenotiazine ar putea fi preparate și iradiate în timpul misiunilor spațiale, obținând astfel din medicamente neuroleptice agenți antimicrobieni. Deoarece radiatia cosmică este dificil de simulat, modificarea probelor în urma unei astfel de interacții este greu de testat. Expunerea la radiație trebuie să fie controlată, prin urmare utilizarea unei surse specifice (e.g. radiație laser) este necesară. În plus, formulările farmaceutice pe bază de solutii sunt stabile un interval de timp limitat, așadar ar putea fi mai avantajoasă transportarea acestora sub formă de pudră, din care la nevoie se pot prepara si iradia solutii cu sisteme de diodă laser. În consecintă, ar trebui avute în vedere studii legate de expunerea soluțiilor sau picăturilor care conțin soluții de fenotiazine în condiții de microgravitație, înainte de implementarea acestei strategii în viitoarele călătorii spațiale. Prin urmare, acest subcapitol prezintă informații despre efectele microgravitatiei asupra spectrelor LIF a picăturilor de CPZ suspendate de-a lungul procesului de iradiere laser. Se astepta ca mediul microgravitational să inducă modificări moleculare diferite în interiorul picăturilor în timpul expunerii la radiație laser UV. În urma experimentului DropTES, însă, nu s-a remarcat nici o modificare în cinetica lungimii de undă a maximului de fluorescență, ci doar în cazul cineticii intensității spectrelor înregistrate în conditii de microgravitatie fată de cele terestriale. Sectiunea de fată contine informații din raportul proiectului UNOOSA [60].

### Procedura experimentală

Soluția de CPZ neiradiată a fost preparată la o concentrație de 20 mg/ml, imediat înainte de experimentul DropTES având în vedere fotosensibilitatea acesteia, protocolul fiind identic cu cel prezentat în subcapitolul 2.1. Expunerea unei picături suspendate de CPZ la fascicul laser UV în condiții de microgravitație a fost efectuată în prima parte a căderii libere. Studiul optofluidic s-a realizat în timp real în modul de cădere liberă utilizând un montaj dezvoltat special pentru proiectul DropTES. Primul pas al experimentului a constat în generarea de micropicături suspendate prin intermediul sistemului de dozare (75900-00, Cole-Parmer), folosit și în cadrul campaniei LDC (subcapitolul 3.3). Pompa a fost adaptată proiectului DropTES în vederea integrării a trei seringi de sticlă de 100 µl fiecare (1710 LT, Hamilton), permițând astfel generarea simultană a trei picături suspendate adiacente: (i) CPZ neiradiat care urma să fie expus în timp real la radiație laser UV, (ii) apă ultrapură și (iii) CPZ neiradiat.

Aranjamentul seringilor, respectiv al picăturilor suspendate, este ilustrat în figura 4.1.1. Trebuie precizat că suportul pompei folosit pentru fixarea seringii a necesitat modificare deoarece campania DropTES prevedea numai o testare și trei experimente propriu-zise. În felul acesta, studiul a putut fi efectuat în triplicat pentru evaluarea reproductibilității rezultatelor. Picăturile cu un volum de  $\approx 7 \mu l$  (corespunzând unui diametru de  $\approx 2,38 \text{ mm}$ ) s-au produs pe vârful capilarelor de oțel inoxidabil acoperite cu politetrafluoroetilenă (NE31, KRÜSS) având diametrul exterior de 0,5 mm și fiind conectate la seringi prin intermediul adaptorilor Luer din oțel inoxidabil.



Figura 4.1.1: Reprezentarea grafică a configurației seringilor și generarea de picături suspendate. Expunerea în timp real la radiație laser UV a unei picături de CPZ a avut loc în condiții de microgravitație la Bremen Drop Tower. Ordinea picăturilor (dinspre sursa de iradiere): CPZ iradiat, apă ultrapură și CPZ neiradiat. N.B.: Picătura de apă a fost plasată între picăturile iradiate și neiradiate de CPZ pentru a evita expunerea accidentală a celei neiradiate.

Procesul de iradiere în timp real reprezintă un aspect de noutate al proiectului DropTES, sistemul constând dintr-o diodă laser (PICOPOWER-LD-375-50, ALPHALAS) și o unitate de control (PLDD-50M, ALPHALAS), livrând radiație laser în regim de undă continuă (CW), emisă la 375 nm. Avantajul unei diode laser constă în dimensiunile și consumul redus, precum și în calitatea optică a fasciculului generat. Datorită divergenței fasciculului < 3 mrad, nu a mai fost necesară o lentilă suplimentară pentru colimare.

Luând în considerare că în modul de cădere liberă durata condițiilor de microgravitație este de  $\approx 4,5$  s (după extragerea intervalului de 0,2 s când calitatea microgravitației nu este în domeniul de măsurare [61]), timpul de interacție a fasciculului laser cu picătura a fost limitat la cel mult 3 s. De asemenea, trebuie accentuat faptul că iradierea a avut loc la  $10^{-6}$  g, după generarea picăturilor suspendate în gravitație terestră și înainte de detașarea acestora în microgravitație.

Puterea medie a fasciculului laser incident și zona expusă sunt parametri cruciali, din moment ce timpul de degradare a compusului parental și formarea de noi fotoproduși depind de densitatea medie de putere. Relația dintre puterea medie, densitatea medie de putere (i.e. iradianță) și dimensiunea fasciculului se rezumă la un singur aspect: ce se va întâmpla cu soluția medicamentoasă în timpul iradierii? Pentru un laser care emite în regim de CW, puterea medie este deja cunoscută, dar în cazul celui în regim pulsat, energia pulsului trebuie înmulțită cu rata de repetiție.

În experimente anterioare [62], picătura de CPZ a fost expusă la radiația unui laser pulsat cu corp solid. Datorită puterii medii relativ scăzute a diodei laser în regimul pulsat (890 µW la 50 MHz) și a timpului limitat de interacție a fasciculului cu picătura în microgravitație (3 s), în primul rând a fost redus volumul picăturii generate și în al doilea rând a fost selectat regimul de CW. În acest fel, s-au putut induce modificări structurale în conținutul picăturii în intervalul de timp stabilit. Puterea fasciculului laser emis în CW a fost de 46 mW, iar profilul spațial a fost aproximat de tip gaussian cu diametrul de 1,7 mm, deși este caracterizat de un profil ușor eliptic (1,6 mm × 1,8 mm la 10 cm distanță de la apertură). Astfel, aria fasciculului aproximat a fost de 0,023 cm<sup>2</sup>, în timp ce aria unei picături de 7 µl (i.e. aria unei sfere de rază r calculată din volumul V:  $A = \pi r^2 = \pi (3V/4\pi)^{2/3})$  a fost de 0,044 cm<sup>2</sup>. Prin urmare, zona expusă la iradiere este mai mică decât aria picăturii, fasciculul fiind aliniat central pe aceasta, obținându-se astfel o densitate medie de putere de 2 W/cm<sup>2</sup>, adică de  $\approx 4$  ori mai mare ca în studiul din [62]. Totuși, trebuie precizat faptul că în proiectul DropTES s-a folosit o concentrație dublă (20 mg/ml vs 10 mg/ml), care poate conduce la o rată de fotodegradare mai lentă a probei de CPZ inițiale.

In cadrul experimentului DropTES s-a studiat interacția rezonantă dintre fasciculul laser și picătura suspendată. Acest tip de proces a fost investigat în [14], și are loc când radiația laser este absorbită de către moleculele picăturii. Prin urmare, lungimea de undă a fasciculului laser trebuie selectată în așa fel încât solventul soluției să nu absoarbă radiația, în timp ce agenții activi din picătură să fie excitați de către aceasta. După procesul de excitare, dezexcitarea moleculelor se realizează fie prin emisia de fluorescență, fie prin căi de reacție nonradiativă. O altă consecință a absorbției radiației laser poate reprezenta formarea de noi produși prin disocierea substanțelor inițiale.

Formarea fotoprodușilor în picăturile iradiate a fost urmărită în timp real în microgravitație prin înregistrarea spectrelor LIF în timpul căderii libere utilizând un spectrometru portabil (HR 4000CG-UV-NIR, Ocean Optics) în domeniul spectral 200 nm – 1100 nm, cu o rezoluție optică < 0,5 nm (FWHM) și un raport semnal – zgomot 300:1 (la semnal maxim). O fibră optică (Thorlabs), cu diametrul miezului de 1500 µm, apertura numerică de 0,39 și intervalul de operare 300 nm – 1200 nm, a fost folosită pentru a colecta semnalul de fluorescență emis de picătura de CPZ în timpul iradierii laser. Fibra a fost poziționată la un unghi solid la care semnalul era maxim și nu obtura planul de vizualizare – iluminare a picăturii.

Montajul de iradiere face parte din ansamblul experimental dezvoltat pentru proiectul DropTES și din acest motiv va fi prezentat integral împreună cu celelalte subsisteme, în subcapitolul 4.2.

### Analiza LIF

Proiectul DropTES și-a propus să investigheze evoluția spectrală și temporală a semnalelor de fluorescență ale picăturii de CPZ în condiții de microgravitație. Semnalele LIF înregistrate la  $10^{-6}$  g au fost comparate cu cele obținute la 1 g (figura 4.1.2). Era de așteptat ca supunerea la microgravitație să conducă la modificări moleculare diferite în interiorul picăturii de medicament față de cazul iradierii în condiții terestre de 1 g. Condițiil de microgravitație reduc multe dintre efectele nedorite ale mediului terestrial, printre care și sedimentarea, permițând astfel forțelor intermoleculare să domine [63]. Pe lângă forțele interatomice și intermoleculare, un alt factor fundamental care nu este afectat de reducerea accelerației gravitaționale este mișcarea browniană [64]. Această mișcare continuă, dezordonată și dependentă de temperatură, a unor particule/molecule aflate într-o suspensie coloidală, poate fi descrisă teoretic ca o forță de contrabalansare a sedimentării în cazul particulelor cu un diametru mai mic de  $\approx 0.5$  pm și o diferență de densitate < 0.03 g/cm<sup>3</sup> [65]. Așadar, lipsa sau mai bine zis, diminuarea sedimentării în microgravitație, poate conduce la o distribuție omogenă a particulelor în fluide [66]. Prin urmare, o distribuție diferită a moleculelor în interiorul unei picături care conține soluție medicamentoasă, la un nivel gravitațional redus față de cel terestru, ar putea fi detectată prin colectarea de spectre LIF. Măsurările LIF permit monitorizarea fotodisocierii soluției de CPZ induse de interacția cu radiația laser, sub formă de picătură suspendată, prin înregistrarea modificărilor spectrelor de emisie de fluorescență.



Figura 4.1.2: Evoluția semnalului de fluorescență al picăturii de CPZ la 20 mg/ml expuse la radiație laser emisă la 375 nm. Spectrele LIF la nivelul gravitațional de (a) 1 g și (b)  $10^{-6}$  g.

Spectrele LIF din figura 4.1.2, înregistrate în decursul expunerii de 3 s la fascicul laser a picăturii de CPZ la concentrația de 20 mg/ml, sunt caracterizate de prezența unei singure benzi cu maximul la 493 nm în 1 g și la 492 nm în  $10^{-6}$  g, după 100 ms de iradiere. În următoarele 50 ms (i.e. 150 ms de expunere laser), semnalul de fluorescență crește și maximul suferă o deplasare batocromică de 5 nm în condiții gravitaționale terestre (figura 4.1.2(a)), respectiv 6 nm în microgravitație (figura 4.1.2(b)). De la 1 s de expunere laser până la finalul procesului de iradiere, maximele se situează la 500 nm în ambele cazuri. Intensitatea fluorescenței crește rapid, în special în intervalul de timp 100 ms – 150 ms, maximul fiind atins după 300 ms de iradiere, atât în 1 g, cât și în  $10^{-6}$  g.

Deplasările batocromice, împreună cu cele hiper- și hipocromice, sunt ilustrate în figura 4.1.3. Cinetica lungimii de undă a maximului de fluorescență are aceeași tendință de creștere în ambele condiții gravitaționale, având loc o deplasare spre lungimi de undă mai mari, care sugerează formarea de noi fotoproduși. Caracteristicile spectrului de fluorescență nu depind de substituentul de la poziția 10 din structura derivaților de fenotiazină, însă pot fi influențate de modificări ale substituentului de la poziția 2 [67]. Prin urmare, deplasarea spre roșu a benzii de fluorescență presupune schimbări structurale survenite la substituentul de la poziția 2 al CPZ-ului.



Figura 4.1.3: Evoluția benzii de fluorescență în decursul celor 3 s de iradiere laser ale picăturii de CPZ la 20 mg/ml. Cinetica lungimii de undă și a intensității maximului de fluorescență, în funcție de timpul de expunere, în cazul (a) 1 g și (b)  $10^{-6}$  g.

De asemenea, spectrul LIF este influențat de pH-ul soluției și de timpul de iradiere [68]. În urma studiilor din subcapitolele 2.1 și 3.1 s-a observat o scădere exponențială a pH-ului soluțiilor de CPZ în volum în decursul expunerii la radiația unui laser pulsat cu corp solid. Deși pH-ul nu a fost măsurat în studiul prezent, se poate spune cu certitudine că valorile acestuia descresc în decursul expunerii laser, ținând cont de raportările anterioare [8, 10, 14]. Declinul pH-ului poate fi explicat de procesul de fotoionizare care se desfășoară în timpul iradierii laser [15–18]. În plus, se formează un cation de hidrogen, obținut prin disocierea legăturii C–Cl. Procesul de protonare este probabil responsabil pentru reconfigurarea moleculară. În cele din urmă, analiza LIF sugerează că CPZ-ul se fotodegradează prin iradiere, conducând la generarea de fotoproduși cu proprietăți spectrale distincte în comparație cu compusul inițial.

Cinetica intensității maximului de fluorescență este descrisă de o creștere până la 300 ms, urmată de un declin, atât în cazul nivelului gravitațional redus cât și al celui terestru. Totuși, există o mică diferență în comportamentul semnalului de fluorescență după ce atinge intensitatea maximă. În cazul 1 g (figura 4.1.3(a)), are loc o scădere de 29 % până la timpul de iradiere de 1 s, apoi intensitatea crește ușor până la terminarea procesului de expunere laser. În contrast, la  $10^{-6}$  g, după obținerea semnalului maxim se poate nota o reducere continuă de 53 % a intensității fluorescenței până la finalul iradierii de 3 s (figura 4.1.3(b)).

Această diferență în cinetica intensității maximului de fluorescență, după atingerea valorii maxime, se poate datora faptului că în condițiile gravitaționale terestre conținutul picăturii este posibil să fie distribuit neomogen. Se poate presupune că la interacția fasciculului laser cu picătura se formează un precipitat, deja observat în studiile inițiale în cazul soluțiilor în volum de ordinul mililitrilor [10], care difuzează în timpul iradierii, facilitat de un agitator magnetic. În cazul de față, din cauza volumului de ordinul microlitric nu au fost observate precipitate, ci doar modificarea culorii soluției iradiate. Totuși, trebuie precizat că în cazul studiilor pe picături, conținutul acestora nu a fost omogenizat de-a lungul procesului de iradiere, existând posibilitatea ca fotoprodușii generați să migreze la interfața picăturii, poate chiar să se sedimenteze la polul sud al acesteia din cauza gravitației terestre. În special atunci când moleculele de CPZ se auto-asociază printr-un proces treptat, formând agregate după ce se depășește concentrația critică micelară (CMC) [26], sedimentarea acestora devine și mai probabilă în 1 g. În cazul CPZ-ului s-a determinat o valoare a CMC-ului la  $\approx 10 \text{ mg/ml}$  [26]. În ceea ce privește experimentul DropTES, concentrația soluției de CPZ a fost de 20 mg/ml, ceea ce poate însemna că în primele etape ale procesului de iradiere pot exista micele, după care concentrația de CPZ scade treptat datorită degradării compusului inițial. De exemplu, într-un studiu efectuat la 2 mg/ml pe soluția de CPZ în volum s-a arătat că după 2 h de expunere la radiația unui laser pulsat cu corp solid compusul parental nu mai este prezent în soluție [11]. Prin urmare, se poate presupune că în urma interacției fasciculului laser cu picătura, concentrația de CPZ scade de asemenea, astfel absorbția la 375 nm a compusului este dominant datorată monomerilor, așa cum s-a discutat și în [10].

Un alt aspect de luat în considerare, când vine vorba de diferența cineticii intensității maximului de fluorescentă, constă în aparitia unor tulburente în picături datorită generării acestora prin pompai. Acest fenomen putea fi prezent în cazul ambelor măsurări (1 g și  $10^{-6}$  g), deoarece chiar și picăturile studiate în microgravitație au fost generate în condiții terestriale. Mai precis, înaintea tranzitării montajului experimental din 1 g în  $10^{-6}$  g, s-a ajustat volumul picăturilor până la 7 µl, ceea ce poate fi suficient să creeze oscilații/vortexuri/tulburențe pe suprafața și/sau în interiorul acestora. Diferența, totuși, ar putea rezida în variația ratei de sedimentare între 1 g și  $10^{-6}$  g. Referitor la 1 g, fotoprodușii și/sau micelele generate în picătură pot migra la interfata acesteia, iar cele cu masă mare se pot sedimenta, pe când la  $10^{-6}$  g, are loc diminuarea sedimentării, ceea ce duce la migrarea uniformă a produsilor la interfata picăturii. Se propune ipoteza că turbulența, apărută din cauza generării picăturilor, induce o mișcare circulară care poate deplasa compușii de-a lungul interfeței, astfel ajungându-se la o iradiere laser mai uniformă, în timp ce în cazul produșilor sedimentați, probabil, turbulența nu este îndeajuns de intensă pentru a induce aceea mișcare circulară, iradierea nefiind la fel de uniformă. În plus, la nivelul gravitațional terestru există o competiție între sedimentare și mișcarea browniană, care în cazul microgravitației este dominată de agitația termică. Prin urmare, la  $10^{-6}$  g, fotoprodușii generati sunt cel mai probabil distribuiti omogen, ceea ce ar putea implica o viteză de degradarea mai rapidă a compusului initial, conducând la stingerea fluorescentei într-un timp mai scurt. În studiul efectuat la Bremen Drop Tower nu s-a ajuns până la acest fenomen de stingere, deoarece timpul de interactie a fasciculului laser cu picătura a fost doar de 3 s. Însă, în [62], picătura de CPZ a fost iradiată 300 s (i.e. de 100 de ori mai lung). Cu toate acestea, datorită densității medii de putere de  $\approx 4$  ori mai mare în cazul experimentului DropTES, timpul de expunere laser a fost de  $\approx 25$  de ori mai scurt pentru a se obține aceeași rată de iradiere.

### Concluzii

În acest subcapitol a fost raportat efectul gravitației reduse asupra proprietăților optofluidice ale picăturilor de CPZ suspendate, aspectul de noutate constând în expunerea la radiatie laser UV si modificarea conținutului acestora în timp real în condiții de microgravitație. În vederea efectuării măsurărilor de LIF, s-a dezvoltat un montaj experimental special care să suporte implementarea în studii de cădere liberă. Rezultatele obținute în cadrul proiectului DropTES, derulat sub egida UNOOSA, au evidențiat prezența unei singure benzi de fluorescentă, al cărei maxim, în timpul iradierii laser de 3 s, suferă o deplasare batocromică. Această observație a fost confirmată, atât în condiții de  $10^{-6}$  g, cât și de 1 g, ducând la constatarea că cinetica lungimii de undă a maximului de fluorescență nu este influențată de nivelul de gravitație. În orice caz, această deplasare spre lungimi de undă mai mari a maximului sugerează formarea de noi fotoproduși în decursul expunerii la fascicul laser. Referitor la cinetica intensității maximului de fluorescență, însă, s-a observat o ușoară diferență între spectrele înregistrate în condiții de gravitație terestră și microgravitație. Atingerea semnalului maxim de fluorescență este urmată de o scădere în intensitate, ceea ce în cazul  $10^{-6}$  g se continuă până finalizarea procesului de iradiere, iar în 1 g intensitatea crește din nou. Acest efect diferit dintre cele două niveluri de gravitație se poate datora în principal diminuării procesului de sedimentare în microgravitație. Subcapitolul prezent tratează câteva ipoteze, care necesită investigatii suplimentare în vederea validării sau infirmării acestora. În cele din urmă, se presupune că de fapt rata de degradare este diferită la  $10^{-6}$  g, comparativ cu 1 g, datorită distributiei omogene a fotoprodusilor în picătura suspendată, si de fapt nu se induc modificări moleculare diferite în conținutul picăturii de CPZ, asa cum s-a preconizat inițial.

Studiul din cadrul acestui subcapitol face parte dintr-o cercetare vastă care are scopul dezvoltării de soluții medicamentoase multifuncționale prin expunere controlată la radiație luminoasă a unor compuși fotoactivi, în vederea unei posibile implementări în misiunile spațiale de lungă durată. În anumite situații s-ar putea dovedi avantajoasă prepararea agenților antimicrobieni în timpul misiunii, din acest motiv s-a realizat acest studiu preliminar implementând o arhitectură experimentală portabilă.

### 4.2 Influența microgravitației asupra interacției picăturilor de fenotiazine iradiate laser cu suprafețe impermeabile

In acest subcapitol sunt evidențiate modificările proprietăților de umectare suferite la interacția picăturilor sesile care conțin apă ultrapură, soluție de CPZ neiradiată și soluție de CPZ iradiată cu o suprafață de aluminiu în condiții de microgravitație. Rezultatele oferă informații despre efectele microgravitației asupra evoluției unghiurilor de contact și a diametrelor de umectare. Deoarece forma picăturii este guvernată atât de tensiunea superficială, cât și de gravitație, era de așteptat ca mediul gravitațional redus din cadrul experimentului DropTES să inducă un comportament diferit al picăturilor, ducând la o umectabilitate a suprafeței modificată. Așa cum s-a preconizat, în microgravitație valorile unghiurilor de contact au crescut din cauza forței gravitaționale diminuate. De asemenea, a fost evidențiat faptul că picăturile iradiate au avut proprietăți de udare îmbunătățite față de cele neiradiate, atât în condiții gravitaționale terestre, cât și în microgravitație. Datele obținute au fost comparate, atât în funcție de tipul soluției, cât și de nivelul de gravitație. Secțiunea de față conține informații din raportul proiectului UNOOSA [60].

### Procedură experimentală

Capacitatea de umectare în mediul microgravitațional a fost studiată pentru picăturile de CPZ neiradiate și CPZ iradiate laser în timpul căderii libere (protocolul de iradiere diferit față de cel folosit în capitolele anterioare, detaliat în subcapitolul 4.1). Apa ultrapură a fost de asemenea testată, fiind solventul soluțiilor fenotiazinice.

Ţinta investigată la Bremen Drop Tower a constat dintr-o suprafață de aluminiu (prelucrat din material standard), deoarece durata scurtă a condițiilor de microgravitație de  $\approx 4,5$  s (după extragerea intervalului de timp de 0,2 s când calitatea microgravitației nu este în domeniul de măsurare [61]) nu permitea interschimbarea țintei. În plus, doar patru căderi libere (o testare + trei experimente) au fost prevăzute în programul DropTES. Pentru evaluarea reproductibilității rezultatelor era nevoie de un număr minim de trei măsurări cu aceeași soluție pe același material. Suprafața țintă de aluminiu a fost șlefuită și finisată conform procedurii descrise în subcapitolul 3.3. Dintre materialele examinate în condiții terestriale (subcapitolul 2.3) și de hipergravitație (subcapitolul 3.3), atenția a fost îndreptată spre aluminiu deoarece reprezintă unul dintre elementele de bază în industria aerospațială. Suprafețele care au în componență acest material ar putea necesita dezinfectare în timpul misiunilor spațiale îndelungate.

Rezultatele din acest subcapitol se bazează pe metoda picăturii sesile, care se referă la generarea de picături suspendate în gravitație terestră, înainte de intrarea în mediul microgravitațional, urmat de detașarea de pe capilare și contactul fizic cu suprafața țintă la  $10^{-6}$  g. Interacția medicament – suprafață a fost investigată prin determinarea gradului de umectare, măsurând unghiurile de contact și diametrele de udare. Studiul microfluidic a avut loc în timp real în modul de cădere liberă, folosind un montaj experimental dezvoltat special pentru proiectul DropTES.

După generarea celor trei picături suspendate și iradierea celei de CPZ (protocoalele prezentate în subcapitolul 4.1), picăturile au fost depuse pe suprafața țintă cu ajutorul unui sistem de translație, constând dintr-un motor pas cu pas (L4118M1804-T5X5, Nanotec) și o unitate de control (SMCI35, Nanotec), folosit pentru deplasarea pe verticală a suprafeței (în sus și apoi în jos). Fără nici o forță externă exercitată asupra picăturilor în microgravitație, acestea ar fi rămas atașate de capilare și nu ar mai fi intrat în contact cu ținta. Prin urmare, translatarea suprafeței a facilitat detașarea picăturilor la volumul și la momentul dorit, formându-se astfel picături sesile.

Deoarece procesele de udare în condiții gravitaționale terestre și de hipergravitație sunt rapide, scala de timp maximă depinzând de tipul soluțiilor și suprafețelor utilizate, de volumul picăturilor generate pe suprafață și de nivelul de gravitație (a se vedea rezultatele din subcapitolele 2.3 și 3.3), timpul rămas după iradierea de 3 s a fost suficient de lung pentru a studia interacția picăturilor cu suprafața țintă. Chiar dacă o expunere mai lungă la mediul de microgravitație ar fi fost de preferat, configurația experimentală DropTES nu trebuia să treacă sub nici o formă prin hipergravitație la lansare. Capilarele ar fi eliminat cel mai probabil conținutul acestora, iar montajul ar fi intrat în microgravitație fără lichidele de testare. Un alt element vulnerabil ar fi fost subsistemul de iradiere laser, care s-ar fi putut dezalinia din cauza nivelurilor ridicate de gravitație exercitate înainte de experiment. Din aceste considerente, proiectul DropTES nu putea beneficia de intervalul de timp dublat al sistemului de catapultă.

Generarea picăturilor, comportamentul, expunerea la radiație laser și interacția acestora cu aluminiul au fost vizualizate și înregistrate cu o cameră de mare viteză (Phantom Miro 3, Vision Research), care suportă accelerații gravitaționale ridicate (specificațiile tehnice descrise în subcapitolul 3.3). Un obiectiv cu distanță

focală de 60 mm (AF-S Micro Nikkor f/2.8G ED, Nikon) a fost cuplat la cameră printr-un adaptor de tip Cmount (Bower). Pentru înregistrare a fost utilizată o rezoluție de 640 px  $\times$  320 px cu o viteză de 2000 cadre/s, timpul dintre două cadre consecutive fiind de 500 µs. Trebuie menționat că pentru a vizualiza cele trei picături, una lângă alta, un câmp vizual adecvat trebuia selectat, păstrând totuși un echilibru între o rezoluție suficient de bună și o rată de înregistrare ridicată. Achiziția, prelucrarea și exportarea datelor video sub formă de imagini individuale a fost posibilă cu ajutorul programului Phantom Camera Control 2.6 (Vision Research).

Pentru a facilita determinările unghiurilor de contact și a diametrelor de umectare a fost implementat un scenariu de iluminare (configurație similară cu cea din subcapitolele 2.3 și 3.3) constând dintr-un sistem cu LED difuz cu intensitate reglabilă plasat în fața camerei de mare viteză. Astfel, s-a obținut o siluetă a picăturii, oferind o imagine întunecată, clară și cu un contur bine definit pe un fundal gri deschis, ceea ce asigură contrastul necesar interpretării datelor.

Ca ultimă etapă, după campania DropTES, imaginile colectate au fost analizate cu ajutorul programului ADVANCE (KRÜSS). Într-un prim pas s-a stabilit timpul de impact al picăturilor cu ținta, după care s-a definit linia de contact, urmat de fitarea conturului picăturilor cu metoda elipsă, obținând în felul acesta parametrii doriți (i.e. unghiurile de contact și diametrele de udare).

Figura 4.2.1 descrie din vedere frontală configurația experimentală utilizată în condiții de microgravitație în cazul celor trei picături în interacție cu suprafața țintă impermeabilă în cadrul proiectu-lui DropTES. Componentele montajului au fost fixate pe profile de aluminiu extrudat (Bosch Rexroth) pentru a facilita ajustarea echipamentelor în timpul testărilor și/sau între căderi libere consecutive. Profilele la rândul lor au fost montate pe o platformă standard (material: aluminiu – placaj – aluminiu, suprafață utilă: 0,359 m<sup>2</sup>, grosime: 28 mm, masă cu clemele de prindere incluse: 15,5 kg).

Instrumentația auxiliară (mini PC, convertoare, unități și plăci de control) a fost instalată pe o altă platformă standard, sub platforma care acomoda echipamentul principal. În cazul capsulei scurte, ansamblul experimental nu poate depăși înălțimea maximă de 953 mm și masa maximă de 264,4 kg, ținând cont că masa totală a capsulei permisă este de 500 kg [61]. În timpul proiectării s-a avut în vedere o distribuție echilibrată a masei elementelor plasate pe platforme.



Figura 4.2.1: Reprezentarea grafică a aranjamentului experimental montat într-o capsulă scurtă în cadrul facilității Bremen Drop Tower. Montajul principal din vedere frontală, folosit pentru investigarea interacției picătură – suprafață țintă, conținând modulul de generare de trei picături microvolumetrice, sistemul de iradiere laser UV și colectare de semnale LIF, camera de vizualizare și înregistrare de imagini și unitatea de iluminare. Componentele de observare – iluminare ale configurației sunt amplasate perpendicular pe planul de iradiere a picăturilor. N.B.: Scalarea desenului este neproporțională cu montajul integrat în capsulă.

Figura 4.2.2 prezintă integrarea experimentului DropTES într-o capsulă scurtă folosită în cazul studiilor în modul de cădere liberă. În imaginea de ansamblu, înainte de montarea carcasei capsulei, se pot observa platformele cu instrumentația principală și auxiliară a proiectului, precum și echipamentul facilității (figura 4.2.2(a)). Configurația experimentală propriu-zisă instalată pe platforma centrală arată sistemul laser împreună cu cel de achiziție a semnalului de fluorescență și camera de mare viteză (figura 4.2.2(b)). Zona de interacție a aranjamentului experimental, din vedere frontală, detaliază cele trei picături detașate de pe vârful capilarelor prin translatarea suprafeței țintă cu ajutorul motorului pas cu pas, după finalizarea procedurii de iradiere (figura 4.2.2(c)).



Figura 4.2.2: Ansamblul experimental integrat în interiorul unei capsule mici de cădere liberă: (a) imagine de ansamblu cu toate componentele, (b) imagine de ansamblu cu dioda laser, fibra optică și camera de mare viteză și (c) vedere frontală a zonei de interacție dintre cele trei picături și suprafața țintă de aluminiu după terminarea procesului de expunere la radiație laser.

După instalarea configurației experimentale și fixarea carcasei, a bazei în formă de con și a capacului, capsula a fost ridicată până în vârful tubului din interiorul turnului, de unde este apoi eliberată în vid. În felul acesta, studiile se derulează în cădere liberă timp de  $\approx 4.5$  s, supunând montajul la condiții de microgravitație de  $10^{-6}$  g. Este de menționat că între căderi libere consecutive au fost realizate măsurări și la 1 g, în vederea efectuării de studii comparative.

### Analiza proprietăților de umectare

Rezultatele obținute în cadrul proiectului DropTES corespund cu cele preconizate. Era de așteptat ca în microgravitație valorile unghiurilor de contact să fie mai mari din cauza forței gravitaționale diminuate, dar acest lucru rămânea să fie demonstrat. Totodată, se aștepta ca picăturile de CPZ iradiat să aibă proprietăți de udare îmbunătățite față de CPZ-ul neiradiat, iar datele obținute au confirmat acest comportament, atât în condiții de 1 g, cât și de  $10^{-6}$  g. Trebuie precizat că majoritatea investigațiilor anterioare, cu privire la linia și unghiul de contact, au fost dezvoltate în condiții de evaporare a picăturii. În studiul prezent, efectul evaporării a fost neglijat, luând în considerare, pe de o parte, viteza de evaporare mai scăzută a apei (folosită ca atare, dar și ca solvent al soluțiilor de CPZ) comparativ cu solvenți volatili (e.g. etanol). Pe de altă parte, după extragerea timpului de iradiere de 3 s din durata condițiilor de microgravitație de  $\approx 4,5$  s, intervalul de timp al interacției picăturilor sesile cu suprafața este < 1,5 s, ținând cont că după finalizarea procesului de iradiere ținta trebuia translatată pentru a detașa picăturile. Astfel, timpul de viață al picăturilor sesile pe materialul studiat a fost  $\approx 500$  ms, un interval prea scurt pentru observarea efectului evaporării. În cele din urmă, obiectivul acestui subcapitol nu reprezintă investigarea procesului de evaporare.

În gravitație terestră, diferența între valorile unghiurilor de contact ale CPZ-ului neexpus și cel expus la fascicul laser a fost de 2°, în timp ce în microgravitație de 4° (comparația valorilor determinate la momentul t = 450 ms). Se presupune că acest rezultat poate fi datorat tensiunii superficiale scăzute a soluției de CPZ iradiate față de cea neiradiată. Măsurările anterioare efectuate pe probe în volum de ordinul mililitrilor expuse la radiația unui laser pulsat cu corp solid au arătat o descreștere treptată a tensiunii superficiale odată cu creșterea timpului de iradiere [14]. Deși în cadrul proiectului DropTES nu s-a măsurat tensiunea superficială a picăturilor pe parcursul iradierii cu dioda laser, nici în condiții gravitaționale terestre și nici în microgravitație, s-au obținut totuși date despre eșantioanele neiradiate, la diferite concentrații, evidențiate în figura 4.2.3(a). Se poate vedea în figura 4.2.3(b) o evoluție exponențială, valoarea tensiunii superficiale fiind diminuată cu 10 %, 35,8 % și 45,4 % în cazul concentrațiilor de 0,2 mg/ml, 10 mg/ml, respectiv 20 mg/ml, față de cea a apei ultrapure (solventul soluțiilor).



Figura 4.2.3: Evoluția tensiunii superficiale a soluțiilor de CPZ, neexpuse la radiație laser, în funcție de concentrație. (a) Declinul valorilor tensiunii superficiale pentru concentrațiile de 0,2 mg/ml, 10 mg/ml și 20 mg/ml. (b) Cinetica tensiunii superficiale măsurate la t = 9900 s în funcție de concentrație. N.B.: Măsurări efectuate la temperatura de 20 °C – 25 °C.

Atunci când evaporarea se neglijează, în principal doar două forțe guvernează forma picăturii: (i) tensiunea superficială, efectul de contractare prin care lichidul îsi minimizează aria suprafetei, ducând astfel la forma (quasi)sferică a picăturii și (ii) gravitatia, efectul de aplatizare a picăturii [69]. Gravitatia mentine picătura pe suprafată, dar în situatiile în care nivelul gravitational este redus, tensiunea superficială este forta predominantă care o păstrează pe suprafață. În cazul lichidelor cu tensiune superficială scăzută, picătura s-ar putea desprinde dacă nivelul de vibrații este prea mare sau valoarea tensiunii superficiale prea mică [70]. Forma de echilibru este determinată de competiția dintre cele două forțe, raportul dintre forța gravitațională și cea de tensiune superficială fiind dat de numărul  $B_0$ . Lungimea capilară  $L_c$  poate fi utilizată pentru determinarea diametrului critic dintre o picătură deformabilă sub influența gravitației și o picătură nedeformabilă. Diametrul critic este  $\approx 2L_c$ , adică atunci când  $B_o = 1$  [69,70]. În cazul  $B_o < 1$ , picătura își menține forma sferică, adică efectul gravitației este minim în comparație cu capilaritatea. Însă, atunci când  $B_o \gg 1$ , picătura se alungește și se aplatizează deoarece efectul gravitației învinge acțiunea capilară. Prin urmare, la  $B_o < 1$ , interfața picăturii nu este influențată aproape deloc de gravitație, în timp ce la  $B_o \gg 1$ , efectul gravitației are un impact puternic asupra interfeței acesteia [69,70]. De regulă se lucrează cu fluide care au diferite proprietăți fizice, cum ar fi densitatea, tensiunea superficială și lungimea capilară (parametri redati în tabelul 4.2.1), apa fiind folosită pentru valoarea tensiunii superficiale mari.

Tabelul 4.2.1: Lungimile capilare determinate atât pentru condiții gravitaționale terestre, cât și de microgravitație. N.B.: Tensiunile superficiale ale soluțiilor studiate în cadrul proiectului DropTES au fost măsurate experimental la 1 atm și 20 °C – 25 °C, valoarea apei ultrapure fiind  $\sigma_{apă} = 72.4 \text{ mN/m}$ , iar a CPZ-ului neiradiat  $\sigma_{CPZneirad} = 39.5 \text{ mN/m}$ . Densitatea soluțiilor de CPZ a fost aproximată cu cea a apei,  $\rho = 997 \text{ kg/m}^3$ . Concentrația de medicament: 20 mg/ml.

Soluție	$L_c (1  ext{ g})  ext{[mm]}$	$L_c \ (10^{-6} \ { m g}) \ [{ m mm}]$	
Apă ultrapură CPZ neiradiat	$2,72 \\ 2,01$	$2,72 \cdot 10^{3}$ $2,01 \cdot 10^{3}$	

Variația valorilor tensiunii superficiale conduce la lungimi capilare distincte, care la rândul lor permit studiul comparativ al comportamentului formei picăturii și unghiului de contact rezultant. În ceea ce privește experimentul DropTES, s-au folosit probe cu tensiuni superficiale diferite, valoarea măsurată pentru apă fiind de 72,4 mN/m, iar în cazul CPZ-ului neiradiat de 39,5 mN/m. Totuși, această diferență nu duce la un decalaj sesizabil în valorile  $L_c$ , așa cum se poate observa în tabelul 4.2.1. Având în vedere că lungimea capilară este invers proporțională cu radicalul gravitației, o reducere de la 1 g la  $10^{-6}$  g implică o creștere de 1000 de ori în lungimea capilară. Această variație semnificativă oferă posibilitatea investigării acțiunii capilare în picături sesile supuse microgravitației. În cazul de față, diferența de 3 ordine de mărime poate cauza discrepanța de  $2^{\circ}$ între condițiile de 1 g și  $10^{-6}$  g atunci când vine vorba de valorile unghiurilor de contact ale CPZ-ului iradiat comparativ cu cel neiradiat. În plus, după cum a fost precizat, CPZ-ul iradiat la 266 nm, în volum, posedă o tensiune superficială a picăturii mai mică decât CPZ-ul neiradiat, fapt ce se presupune că are loc și în decursul iradierii la 375 nm în picătură. În urma experimentului de la Bremen Drop Tower s-a constatat că toate soluțiile prezintă valori ale unghiurilor de contact mai ridicate la  $10^{-6}$  g față de 1 g, iar în cazul diametrelor de udare situația opusă este valabilă, așa cum indică tabelul 4.2.2 și figura 4.2.4. Evoluția valorilor celor doi parametri în gravitație terestră și microgravitație în funcție de soluția folosită se poate observa în tabelul 4.2.2.

Tabelul 4.2.2: Evoluția valorilor unghiurilor de contact și diametrelor de udare în funcție de tipul soluției și nivelul de gravitație. N.B.: Valorile reprezintă media măsurătorilor triplicate și determinate la t = 450 ms după contactul picăturilor cu ținta de aluminiu. Concentrația de medicament: 20 mg/ml.

Soluție	$ heta \ (1 \ g) \ [grad]$	$ heta \ (10^{-6}  ext{ g}) \ [ ext{grad}]$	$D (1  ext{ g})  ext{[mm]}$	$D (10^{-6} \text{ g})$ [mm]
Apă ultrapură	68,76	72,93	2,51	2,38
CPZ neiradiat	49,47	54,76	2,92	2,86
CPZ iradiat	47,49	50,79	2,97	2,95

In ceea ce privește apa ultrapură, există o diferență de  $4,2^{\circ}$  între valorile unghiurilor de contact măsurate în condiții de gravitație terestră față de microgravitație (figura 4.2.4(a)), iar în cazul diametrelor de umectare o diferență de 0,13 mm (figura 4.2.4(b)), cu mențiunea că proprietățile de udare sunt mai favorabile la 1 g. Referitor la CPZ-ul neiradiat, unghiurile de contact sunt mai ridicate cu  $5,3^{\circ}$  în microgravitație față de cele determinate în gravitație terestră (figura 4.2.4(c)), în timp ce diametrele de umectare sunt mai diminuate cu 0,06 mm (figura 4.2.4(d)). Legat de CPZ-ul expus la radiație laser UV, în timpul căderii libere a fost remarcată o creștere de  $3,3^{\circ}$  în valorile unghiurilor de contact în comparație cu 1 g (figura 4.2.4(e)), pe când în cazul diametrelor de udare o descreștere ușoară de 0,02 mm (figura 4.2.4(f)). Trebuie menționat faptul că diferențele mai sus amintite au fost calculate pentru valorile determinate la t = 450 ms, la acest moment de timp picăturile atingând starea de echilibru.

În urma comparării valorilor obținute în cadrul proiectului DropTES cu studiile existente în literatura de specialitate, se poate afirma că rezultatele sunt în concordantă cu observatiile din [70], si anume unghiurile de contact sunt mai mari iar diametrele de umectare mai mici în microgravitație decât în condiții gravitaționale terestre. Însă, trebuie precizat că în contrast cu investigatiile DropTES, cele mai multe cercetări s-au efectuat pe picături sesile produse deja în gravitație terestră și apoi tranzitate în microgravitație. Într-o asemenea situatie, unghiurile de contact măsurate la 1 g sunt mai ridicate față de rezultatele înregistrate în conditii de microgravitație (picături generate în gravitație terestră) [69-71]. Totuși, în [70], valorile unghiurilor de contact și ale diametrelor de udare pentru picături sesile au fost comparate pentru cele două cazuri distincte: (i) create în 1 g și tranzitate prin  $5 \cdot 10^{-2}$  g și (ii) generate direct în  $5 \cdot 10^{-2}$  g. S-a observat un comportament diferit între cele două configurații, obținând unghiuri cu  $14^{\circ} \pm 3^{\circ}$  mai mari și diametre cu 0,4 mm mai mici atunci când picăturile de apă au fost create în  $5 \cdot 10^{-2}$  g în comparație cu 1 g, dar se precizează că în felul acesta interfața modificată a picăturilor duce la diferențe de 33 µl în volumul calculat. Explicația constă în faptul că cele două forțe care acționează asupra picăturilor în condiții de gravitație terestră (i.e. gravitația și tensiunea superficială) determină avansarea liniei de contact și întinderea lichidului pe suprafață. Gravitația "împinge" lichidul pe suprafață, astfel ajungând la unghiuri de contact mai mici. Deși, atunci când picăturile sunt produse în microgravitație, linia de contact avansează pe suprafață fără influența gravitației, rezultând o umectabilitate diferită fată de 1 g. Aceasta, la rândul ei, duce la valori ale unghiurilor de contact distincte, cel mai probabil datorită efectelor proprietăților suprafetei (i.e. rugozitatea), interacțiilor fizico-chimice și captării gazului între suprafața solidă și lichid [70]. Asemenea comportamente ale picăturilor, precum și evoluția unghiurilor de contact ale acestora, pot fi relevante pentru a prezice volumul picăturilor în cazul misiunilor spațiale.



Figura 4.2.4: Evoluția umectabilității suprafeței de aluminiu în funcție de nivelul de gravitație. Interacția picăturilor de apă ultrapură cu aluminiu urmărită prin (a) unghiuri de contact și (b) diametre de udare. Interacția picăturilor de CPZ neiradiate cu aluminiu determinată prin (c) unghiuri de contact și (d) diametre de udare. Interacția picăturilor de CPZ iradiate cu aluminiu obținută prin (e) unghiuri de contact și (f) diametre de udare. Concentrația de medicament: 20 mg/ml.

### Concluzii

În subcapitolul prezent au fost investigate, în condiții de microgravitație, proprietățile de udare ale soluțiilor de CPZ neiradiate și CPZ iradiate cu un fascicul laser emis la 375 nm, precum și ale apei ultrapure, la interacția cu suprafața țintă de aluminiu. S-a realizat un studiu comparativ între umectabilitatea terestrială și cea obținută în condiții de microgravitație, prin determinarea valorilor unghiurilor de contact și a diametrelor de udare pentru cele trei solutii de lucru. Deoarece forma picăturii este guvernată atât de tensiunea superficială, care produce forma sferică a acesteia, cât și de gravitatie, care o aplatizează, lipsa sau diminuarea gravitatiei conduce la cresterea unghiului de contact, ceea ce înseamnă proprietăți de udare mai puțin favorabile. Rezultatele proiectului DropTES, derulat sub egida UNOOSA, au evidențiat această diferență, unghiurile de contact fiind mai mari în  $10^{-6}$  g decât în 1 g. În plus, s-a arătat o proprietate de udare îmbunătățită în cazul probelor iradiate laser față de cele neiradiate, în ambele condiții gravitaționale, discrepanța la  $10^{-6}$  g fiind ușor mai pronunțată. O posibilă explicație rezidă în diferența de 3 ordine de mărime în valoarea lungimii capilare între 1 g și  $10^{-6}$  g. Totuși, este de menționat faptul că în cazul studiului DropTES s-a lucrat cu un volum constant de 7 µl al picăturilor, ceea ce a condus la valori apropiate ale diametrelor de umectare, obtinând astfel numai cazul  $B_0 < 1$ , atât în condiții gravitaționale terestre, cât și în microgravitație. Însă, s-ar fi putut observa efecte și mai accentuate în cazul  $B_0 \gg 1$ . De aceea, se dorește în viitor extinderea domeniului volumetric, ceea ce ar oferi posibilitatea investigării diverselor configurații (i.e.  $B_0 < 1, B_0 = 1$  și  $B_0 \gg 1$ ).

# Capitolul 5

# Concluzii

Actualmente, rezistența antimicrobiană se află printre principalele amenințări la adresa sănătății publice globale cu care se confruntă umanitatea, utilizarea excesivă și necontrolată a agenților antimicrobieni conducând la dezvoltarea MDR-ului. În lipsa unor substanțe antimicrobiene eficiente, rata de mortalitate pe plan mondial se preconizează să crească exponențial în viitorul apropiat. Însă, MDR-ul nu ar trebui să fie doar o preocupare terestrială, ci și a misiunilor spațiale, în special a celor de durată lungă. Zborul spațial afectează comportamentul microbilor, crescând rezistența acestora la tratamente antimicrobiene convenționale. Din aceste motive, se caută soluții alternative de combatere a MDR-ului dobândit de patogeni și de prevenire a răspândirii infecțiilor microbiene în cosmos, pe alte planete și, de asemenea, la întoarcere pe Pământ.

Prezenta teză de doctorat contribuie la eforturile de cercetare care au ca scop dezvoltarea de medicamente multifuncționale. Strategia propusă în cadrul lucrării a constat în reutilizarea unor substanțe deja existente (derivați ai fenotiazinei) și complementarea acțiunii acestora prin îmbunătățirea proprietăților antimicrobiene. Studiile din cadrul tezei s-au axat pe expunerea controlată la radiație luminoasă a unor compuși fotosensibili. Această abordare deschide posibilitatea ca substanțele care nu au efecte antimicrobiene în mod obișnuit, să fie "activate" prin expunerea la radiație laser, accelerând crearea și extinzând astfel gama de tratamente disponibile.

In urma obținerii noilor farmaceutice, trebuie urmărită evoluția proprietăților fizico-chimice și spectrale ale acestora în condiții de mediu variate, care pe lângă factorii uzuali (temperatură, umiditate și radiație) pot fi supuse și testate în diferite medii gravitaționale, în strânsă legătură cu posibila implementare în misiuni extraterestriale. Condițiile extreme întâlnite în decursul explorărilor spațiale includ microgravitația și pentru perioade scurte, hipergravitația. De aceea, teza a fost dedicată cercetărilor privind comportarea în condiții de gravitație alterată a soluțiilor și picăturilor fenotiazinice iradiate. O etapă ulterioară a constat în studiul interacției picăturilor cu suprafețe țintă de interes biomedical și tehnologic. Rezultatele documentate în prezenta lucrare de doctorat constituie o contribuție originală și un element de noutate, întrucât este pentru prima dată efectuată o comparație între comportarea în gravitație terestră și în hipergravitație și/sau microgravitație a probelor mililitrice și microlitrice de soluții de medicamente iradiate laser. Aceste rezultate constituie o bază de la care se poate pleca în materializarea conceptului de utilizare a medicamentelor multifuncționale în misiunile spațiale extinse.

### Contribuții originale

In ceea ce urmează se vor prezenta pe scurt rezultatele originale raportate în teză de către doctorand și detaliate în cadrul lucrării.

 (i) Caracterizarea proprietăților fizico-chimice și spectrale ale soluțiilor de fenotiazine în volum de ordinul mililitrilor la iradiere cu fascicul laser de Nd:YAG emis la 266 nm

Evoluția soluțiilor de CPZ, PZ, PMZ și TZ la concentrațiile de 2 mg/ml și 20 mg/ml a fost urmărită în decursul procesului de iradiere (interval: 1 min – 240 min) și analizată prin măsurări de pH, spectroscopie de absorbție UV-Vis-NIR și analiză TLC. S-a observat că:

- Culoarea soluțiilor se schimbă progresiv în timpul iradierii laser.
- Valorile pH-ului scad exponențial de-a lungul expunerii laser.
- Spectrele de absorbție UV-Vis-NIR evidențiază deplasări hipso- și hipercromice ale maximelor de absorbție în UV, împreună cu apariția și modificarea unor benzi noi în domeniul Vis-NIR. Din schimbările spectrale se poate deduce fotodegradarea compușilor parentali și generarea de noi fotoproduși prin modificările survenite în structura moleculară în timpul iradierii.

- Prin analiza TLC se separă fotoprodușii generați în funcție de polaritate, indicându-se numărul total de produși existenți în soluții după expunerea la fascicul laser UV.
- (ii) Monitorizarea stabilității soluțiilor de fenotiazine în volum de ordinul mililitrilor

Evoluția soluțiilor de PMZ pre-iradiere la diferite concentrații  $(6 \cdot 10^{-2} \text{ M}, 10^{-3} \text{ M}, 10^{-4} \text{ M} \text{ și } 10^{-5} \text{ M})$ , sub influența unor condiții specifice de stocare (e.g. temperatură și iluminare), a fost urmărită până la 2 luni și analizată pe baza proprietăților spectrale de absorbție UV-Vis-NIR înregistrate periodic. De asemenea, stabilitatea în timp a soluțiilor de CPZ, PZ, PMZ și TZ post-iradiere laser la 266 nm la concentrația de 20 mg/ml ( $\approx 6 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ ), depozitate la întuneric și la 4 °C, a fost investigată până la 6 săptămâni. S-a arătat că:

- Soluțiile neiradiate stocate în frigider ( $\approx 4$  °C și întuneric) sunt stabile până la un interval de 4 săptămâni, iar cele depozitate la temperatura de laborator ( $\approx 22$  °C) suferă modificări spectrale, în mod special, probele expuse la lumina ambiantă față de cele păstrate la întuneric.
- Soluțiile iradiate cu fascicul laser UV prezintă schimbări similare cu probele expuse la lumina ambiantă, dar mai rapide și intense, sugerând fotodisocierea compușilor parentali și crearea de noi specii moleculare. În plus, amestecul de fotoproduși nu este stabil în primele 24 h – 48 h, după care devine stabil pentru intervale de timp de ordinul săptămânilor. Acest comportament se poate datora unor produși tranzitorii care se formează în decursul iradierii, având au timp de viață scurt.
- (iii) Caracterizarea proprietăților de umectare ale picăturilor de fenotiazine în volum microlitric cu suprafețe țintă permeabile și impermeabile

Interacția picăturilor care conțin soluții de CPZ, PZ și PMZ la 20 mg/ml, neiradiate și iradiate cu fascicul laser la 266 nm, cu suprafețe de bumbac, poliester și Parafilm M a fost urmărită prin evoluția unghiurilor de contact și a diametrelor de umectare. S-a constatat că:

- Toate unghiurile de contact de pe bumbac și poliester indică valori mai mici de 90° ale picăturilor de fenotiazine, obținându-se astfel o umectabilitate mai bună a suprafețelor țintă. Mai precis, atât soluțiile neiradiate cât și cele iradiate laser prezintă proprietăți de umectare favorabile pe textilele hidrofile în comparație cu apa ultrapură (solventul soluțiilor). În unele instanțe, probele modificate în urma iradierii cu fascicul laser UV posedă proprietăți de umectare îmbunătățite în comparație cu cele neiradiate. Cele mai bune proprietăți de umectare se obțin pe bumbac în cazul eșantioanelor de CPZ neiradiate și iradiate laser, iar pe țesătura de poliester cu proba de PZ expusă la radiație laser.
- Pe suprafața de Parafilm M se determină unghiurile de contact de avansare și de retragere, histerezisul atingând chiar și 55° în cazul picăturilor de CPZ la 0,2 mg/ml. În plus, se observă o creștere a curbei de histerezis în cazul picăturilor cu volum mic (scădere de la 10 µl la 1 µl) pe măsură ce intervalul de timp de iradiere a soluțiilor de CPZ crește.
- (iv) Caracterizarea efectelor hipergravitației asupra proprietăților fizico-chimice și spectrale ale soluțiilor de fenotiazine în volum de ordinul mililitrilor

Stabilitatea soluțiilor de CPZ, PZ, PMZ și TZ la concentrațiile de 2 mg/ml și 20 mg/ml, neiradiate și iradiate cu fascicul laser emis la 266 nm, a fost monitorizată pre- și post-hipergravitație prin măsurări de pH, spectroscopie de absorbție UV-Vis-NIR și analiză TLC. Studiul din această secțiune a fost realizat în cadrul programului SYT. Proiectul internațional propus și câștigat de doctorand sub coordonarea conducătorului științific s-a derulat sub egida ESA. Experimentul a fost efectuat la facilitatea LDC, din cadrul ESTEC, supunând soluțiile fenotiazinice la un mediu gravitațional crescut, cu accelerație gravitațională de 20 de ori mai mare decât cea a Pământului. S-a arătat că:

- Soluțiile fenotiazinice, atât neiradiate, cât și iradiate, sunt stabile după episoadele de 20 g, nefiind evidențiate modificări semnificative între eșantioanele centrifugate și cele necentrifugate măsurate după campanie.
- Referitor la pH, probele nu arată schimbări notabile ale valorilor în funcție de nivelul gravitației, atunci când măsurările sunt efectuate după experimentul de hipergravitație.
- În cazul spectrelor de absorbție, se evidențiază variații minore ale absorbanței pentru eșantioanele centrifugate, fără formarea de noi maxime și/sau benzi. Totuși, până și în soluțiile de control, măsurate pre- și post-hipergravitație, pot apărea efecte de îmbătrânire, fără a fi supuse la hipergravitație.
- Analiza TLC nu a indicat nicio diferență în numărul de fotoproduși formați și separați între probele stocate în condiții gravitaționale terestre și cele supuse mediului gravitațional de 20 g.

(v) Caracterizarea efectelor hipergravitației asupra suprafețelor țintă permeabile impregnate cu picături de fenotiazine în volum microlitric

Evoluția suprafeței de bumbac impregnate cu picături care conțin soluții de CPZ, PZ și PMZ la 20 mg/ml, neiradiate și iradiate cu fascicul laser la 266 nm, a fost analizată după episoadele de hipergravitație prin microscopie de fluorescență. Acest studiu preliminar, calitativ, s-a desfășurat ca parte a proiectului SYT. Experimentul de hipergravitație s-a realizat cu ajutorul instalației LDC, supunând țesăturile preimpregnate cu picături fenotiazinice la condiții gravitaționale de 20 de ori mai mari decât cele terestriale. S-a observat că:

- Există diferențe între zonele neimpregnate și impregnate, picăturile absorbite în fibrele bumbacului emițând fluorescență, iar culorile variind în funcție de tipul medicamentului și de lungimea de undă din domeniul UV la care se vizualizează țesătura.
- Culoarea textilului se schimbă progresiv odată cu creșterea timpului de expunere la radiație UV a soluțiilor fenotiazinice.
- Anumite modificări de culoare pot fi corelate cu rezultate anterioare de LIF.
- (vi) Caracterizarea efectelor hipergravitației asupra proprietăților de umectare ale picăturilor fenotiazinice în volum microlitric cu suprafețe țintă permeabile și impermeabile

Interacția picăturilor care conțin soluții de CPZ la 20 mg/ml, neiradiate și iradiate laser la 266 nm, cu suprafețe de bumbac, cărbune medicinal, aluminiu și Parafilm M a fost urmărită prin evoluția unghiurilor de contact și a diametrelor de umectare în condiții de hipergravitație. Studiul din această secțiune a fost realizat în cadrul programului SYT și reprezintă cercetarea cea mai complexă și inovatoare a proiectului finanțat de ESA, necesitând dezvoltarea unui montaj experimental dedicat special nevoilor facilității LDC. În cadrul experimentului, picăturile suspendate de apă ultrapură, CPZ neiradiate și CPZ iradiate s-au detașat de pe capilar și au ajuns în contact cu suprafețele țintă, formând picături sesile, la niveluri gravitaționale de 2 g, 5 g, 10 g și 20 g, permițând astfel investigarea umectabilității materialelor în timp real. S-a remarcat că:

- Pe măsură ce nivelul de gravitație crește, unghiurile de contact devin mai mici și diametrele de umectare mai mari.
- Picăturile de CPZ, atât neiradiate cât și iradiate, posedă proprietăți de umectare favorabile față de apa ultrapură (solventul soluțiilor), în unele cazuri probele iradiate laser având capacități îmbunătățite comparativ cu cele neiradiate.
- Volumul la care are loc detașarea picăturilor de pe capilar scade pe măsură ce accelerația gravitațională crește.
- Interacția picăturilor cu suprafețele studiate este dominată de un proces dinamic, manifestându-se prin oscilații, regăsite și în datele de unghi de contact, unde amplitudinea scade iar frecvența crește cu mărirea accelerației gravitaționale. Acest comportament se poate datora mai degrabă micșorării volumului picăturii la nivelurile de gravitație ridicate, oscilațiile fiind diminuate din cauza atenuării induse de vâscozitatea soluției.
- (vii) Caracterizarea efectelor microgravitației asupra interacției radiației emise de o diodă laser la 375 nm cu picături de fenotiazine în volum microlitric

Expunerea în timp real și modificarea cu fascicul laser UV a picăturilor care conțin soluție de CPZ la 20 mg/ml a fost urmărită prin înregistrarea spectrelor LIF în condiții de microgravitație. Studiul din această secțiune a fost realizat în cadrul programului DropTES. Proiectul internațional propus și câștigat de doctorand sub coordonarea conducătorului științific s-a derulat sub egida UNOOSA, finanțat de DLR și ZARM. Experimentul a avut loc la Bremen Drop Tower, supunând probele la o accelerație gravitațională comparabilă cu o milionime din cea întâlnită la suprafața Pământului. Proiectul și-a propus să aducă o nouă perspectivă în ceea ce privește interacția radiație laser – picătură medicamentoasă, efectuând iradierea direct în timpul căderii libere. Pentru a permite efectuarea unei asemenea cercetări, a fost necesară dezvoltarea unei configurații experimentale dedicate implementării în Bremen Drop Tower. Picăturile de CPZ suspendate au fost iradiate la un nivel de  $10^{-6}$  g. S-a observat că:

• Picăturile de CPZ iradiate un timp maxim de 3 s în cădere liberă prezintă o singură bandă de fluorescență, similar cu rezultatele obținute în condiții gravitaționale terestre. Acest maxim suferă o deplasare batocromică, atât la 10<sup>-6</sup> g cât și la 1 g. Prin urmare, cinetica lungimii de undă a maximului

de fluorescență nu este influențată de nivelul de gravitație, sugerând că nu au loc modificări moleculare distincte între cel două condiții. În ceea ce privește cinetica intensității maximului de fluorescență, însă, se evidențiază o diferență între spectrele înregistrate în  $10^{-6}$  g și în 1 g. În microgravitație, atingerea intensității maxime de fluorescență este urmată de o descreștere continuă a semnalului, care poate duce la o rată de degradare diferită față de iradierea în 1 g, unde după o scădere inițială intensitatea crește din nou.

(viii) Caracterizarea efectelor microgravitației asupra proprietăților de umectare ale picăturilor fenotiazinice în volum microlitric cu suprafețe țintă impermeabile

Interacția picăturilor care conțin soluții de CPZ la 20 mg/ml, neiradiate și iradiate laser la 375 nm, cu o suprafață de aluminiu a fost urmărită prin evoluția unghiurilor de contact și a diametrelor de umectare în condiții de microgravitație. Acest studiu s-a desfășurat ca parte a proiectului DropTES (menționat la punctul (vii)), experimentul fiind efectuat la Bremen Drop Tower, ceea ce a implicat extinderea montajului realizat pentru condiții de cădere liberă. Proiectul a adus o abordare inovatoare asupra interacției picătură medicamentoasă – suprafață țintă, investigând umectabilitatea aluminiului în timp real de către picături de apă ultrapură, CPZ neiradiate și CPZ iradiate la un nivel gravitațional de 10<sup>-6</sup> g. S-a sesizat că:

- Diminuarea gravitației conduce la creșterea unghiurilor de contact și la scăderea diametrului de umectare, diferențe în valori fiind evidențiate în cazul comparării rezultatelor din  $10^{-6}$  g și 1 g.
- Picăturile de CPZ, neiradiate și iradiate, prezintă proprietăți de umectare favorabile față de apa ultrapură (solventul soluțiilor) în ambele condiții gravitaționale. Mai mult decât atât, eșantioanele expuse la radiație laser indică capacități îmbunătățite în comparație cu cele neexpuse, discrepanța la 10<sup>-6</sup> g fiind mai pronunțată.

Rezultatele din cadrul tezei au fost valorificate prin publicarea a 7 articole în reviste ISI, respectiv 2 articole în reviste non-ISI. De asemenea, rezultatele au fost susținute cu 18 prezentări și 3 postere la conferințe internaționale, respectiv 5 prezentări la conferințe naționale. În plus, o parte din rezultatele descrise în această lucrare au fost incluse în 2 capitole de carte publicate la edituri internaționale. Mai mult decât atât, rezultatele obținute în condiții de hipergravitație și microgravitație arată implementarea cu succes a celor 3 proiecte internaționale câștigate de doctorand sub coordonarea conducătorului științific.

### Perspective

Proprietățile specifice ale radiației luminoase oferă posibilitatea manipulării activității antimicrobiene ale farmaceuticelor fotoresponsive în vederea abordării MDR-ului. Rezultatele obținute în cadrul tezei deschid perspective realiste în domeniul utilizării tehnicilor și metodelor laser în prepararea de medicamente multifuncționale care ar putea fi utilizate atât pe Pământ cât și pe stațiile spațiale care efectuează misiuni de lungă durată. Studierea soluțiilor și a picăturilor medicamentoase (cu volum controlat) în microgravitație și/sau hipergravitație, oferă informații despre comportamentul și proprietățile de umectare ale fluidelor, care ar putea extinde și mai mult gama de aplicații ale medicinei aerospațiale, precum tratarea infecțiilor astronauților și dezinfectarea suprafețelor navelor și stațiilor spațiale. O direcție importantă pe care teza o deschide, care este deja materializată și în desfășurare, este studiul coalescenței picăturilor individuale de soluții de medicamente în microgravitație, care este în prezent obiectul proiectului DropCoal al ESA în care se prevăd experimente pe modulul Columbus din cadrul ISS-ului.

# Bibliografie

- Á. Simon, A. Smarandache, V. Iancu, and M. L. Pascu, "Stability of antimicrobial drug molecules in different gravitational and radiation conditions in view of applications during outer space missions," *Molecules*, vol. 26, no. 8, p. 2221, 2021.
- [2] S. Nistorescu, G. Gradisteanu Pircalabioru, A.-M. Udrea, A. Simon, M. L. Pascu, and M.-C. Chifiriuc, "Laserirradiated chlorpromazine as a potent anti-biofilm agent for coating of biomedical devices," *Coatings*, vol. 10, no. 12, p. 1230, 2020.
- [3] G. Clément and A. P. Bukley, "Human space exploration From surviving to performing," Acta Astronautica, vol. 100, pp. 101–106, 2014.
- [4] ISECG, "The global exploration roadmap," NASA: Washington, DC, USA, vol. 3, 2018.
- [5] N. K. Singh, J. M. Wood, F. Karouia, and K. Venkateswaran, "Succession and persistence of microbial communities and antimicrobial resistance genes associated with International Space Station environmental surfaces," *Microbiome*, vol. 6, no. 1, pp. 1–23, 2018.
- [6] N. Guéguinou, C. Huin-Schohn, M. Bascove, J.-L. Bueb, E. Tschirhart, C. Legrand-Frossi, and J.-P. Frippiat, "Could spaceflight-associated immune system weakening preclude the expansion of human presence beyond Earth's orbit?," *Journal of Leukocyte Biology*, vol. 86, no. 5, pp. 1027–1038, 2009.
- [7] R. S. Blue, T. M. Bayuse, V. R. Daniels, V. E. Wotring, R. Suresh, R. A. Mulcahy, and E. L. Antonsen, "Supplying a pharmacy for NASA exploration spaceflight: Challenges and current understanding," *npj Microgravity*, vol. 5, no. 1, p. 14, 2019.
- [8] Á. Simon, A. Smarandache, T. Tozar, I. R. Andrei, A. Stoicu, J. J. W. A. van Loon, A. Dowson, and M. L. Pascu, "Photoactive chlorpromazine and promazine drugs exposed to hypergravity conditions after interaction with UV laser radiation," Acta Astronautica, vol. 189, pp. 260–268, 2021.
- [9] Å. Simon, T. Tozar, A. Smarandache, M. Boni, A. Stoicu, A. Dowson, J. J. W. A. van Loon, and M. L. Pascu, "Stability studies of UV laser irradiated promethazine and thioridazine after exposure to hypergravity conditions," *Molecules*, vol. 27, no. 5, p. 1728, 2022.
- [10] M. L. Pascu, B. Danko, A. Martins, N. Jedlinszki, T. Alexandru, V. Nastasa, M. Boni, A. Militaru, I. R. Andrei, A. Staicu, et al., "Exposure of chlorpromazine to 266 nm laser beam generates new species with antibacterial properties: Contributions to development of a new process for drug discovery," *PLoS One*, vol. 8, no. 2, p. e55767, 2013.
- [11] T. Alexandru, A. Staicu, A. Pascu, E. Radu, A. Stoicu, V. Nastasa, A. Dinache, M. Boni, L. Amaral, and M. L. Pascu, "Characterization of mixtures of compounds produced in chlorpromazine aqueous solutions by ultraviolet laser irradiation: Their applications in antimicrobial assays," *Journal of Biomedical Optics*, vol. 20, no. 5, p. 051002, 2015.
- [12] A. Smarandache, A. Simon, T. Tozar, V. Nastasa, and M. L. Pascu, "Stability studies on promethazine unexposed and exposed to UV laser radiation," in *Physical Chemistry of Interfaces and Nanomaterials XIV*, vol. 9549, pp. 139– 147, 2015.
- [13] M. C. Moran, T. Tozar, A. Simon, A. Dinache, A. Smarandache, I. R. Andrei, M. Boni, M. L. Pascu, F. Cirisano, and M. Ferrari, "Toxicity study in blood and tumor cells of laser produced medicines for application in fabrics," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 137, pp. 91–103, 2016.
- [14] A. Simon, T. Alexandru, M. Boni, V. Damian, A. Stoicu, V. Dutschk, and M. L. Pascu, "Interaction of solutions containing phenothiazines exposed to laser radiation with materials surfaces, in view of biomedical applications," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 475, no. 1-2, pp. 270–281, 2014.
- [15] T. Iwaoka and M. Kondo, "Mechanistic studies on the photooxidation of chlorpromazine in water and ethanol," Bulletin of the Chemical Society of Japan, vol. 47, no. 4, pp. 980–986, 1974.
- [16] C. F. Chignell, A. G. Motten, and G. R. Buettner, "Photoinduced free radicals from chlorpromazine and related phenothiazines: Relationship to phenothiazine-induced photosensitization," *Environmental Health Perspectives*, vol. 64, pp. 103–110, 1985.
- [17] A. G. Motten, G. R. Buettner, and C. F. Chignell, "Spectroscopic studies of cutaneous photosensitizing agents VIII. A spin-trapping study of light induced free radicals from chlorpromazine and promazine," *Photochemistry and Photobiology*, vol. 42, no. 1, pp. 9–15, 1985.
- [18] G. R. Buettner, R. D. Hall, C. F. Chignell, and A. G. Motten, "The stepwise biphotonic photoionization of chlorpromazine as seen by laser flash photolysis," *Photochemistry and Photobiology*, vol. 49, no. 3, pp. 249–256, 1989.
- [19] J. Trawiński and R. Skibiński, "Studies on photodegradation process of psychotropic drugs: A review," Environmental Science and Pollution Research, vol. 24, pp. 1152–1199, 2017.
- [20] K. ud Din, M. D. A. Al-Ahmadi, A. Z. Naqvi, and M. Akram, "Micellar properties of a phenothiazine drug in presence of additives," *Colloid J.*, vol. 71, p. 498, 2009.
- [21] M. L. Wilde, J. Menz, C. Trautwein, C. Leder, and K. Kümmerer, "Environmental fate and effect assessment of thioridazine and its transformation products formed by photodegradation," *Environmental Pollution*, vol. 213, pp. 658–670, 2016.

- [22] T. Tozar, S. Santos Costa, A.-M. Udrea, V. Nastasa, I. Couto, M. Viveiros, M. L. Pascu, and M. O. Romanitan, "Anti-staphylococcal activity and mode of action of thioridazine photoproducts," *Scientific Reports*, vol. 10, no. 1, p. 18043, 2020.
- [23] J. Aaron, M. Gaye Seye, S. Trajkovska, and N. Motohashi, "Bioactive phenothiazines and benzoaphenothiazines: Spectroscopic studies, and biological and biomedical properties and applications," in *Bioactive Heterocycles VII. Topics in heterocyclic chemistry*, vol. 16, (Berlin/Heidelberg, Germany), pp. 153–231, Springer, 2008.
- [24] J.-J. Aaron, M. Maafi, C. Kersebet, C. Párkányi, M. S. Antonious, and N. Motohashi, "A solvatochromic study of new benzo[a]phenothiazines for the determination of dipole moments and specific solute – solvent interactions in the first excited singlet state," *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, vol. 101, no. 2-3, pp. 127–136, 1996.
- [25] A. Dinache, M. Boni, and M. Pascu, "Phenothiazine derivatives interaction with laser radiation," Rom. Rep. Phys, vol. 65, no. 3, pp. 1078–1091, 2013.
- [26] S. Schreier, S. V. Malheiros, and E. de Paula, "Surface active drugs: Self-association and interaction with membranes and surfactants. Physicochemical and biological aspects," *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*, vol. 1508, no. 1-2, pp. 210–234, 2000.
- [27] T. Tozar and M. L. Pascu, "Time stability of laser exposed phenothiazines aqueous solutions in view of antimicrobial research," in Proc. Rom. Acad. Ser. A, vol. 19, pp. 537–544, 2018.
- [28] C. Lim, "UV-visible spectroscopy and drug stability of pharmaceutical analysis," *Pharmaceutica Analytica Acta*, vol. 13, no. 6, p. 1000680, 2022.
- [29] S. R. Vanapalli, S. P. Kambhampati, L. Putcha, and D. W. Bourne, "A liquid chromatographic method for the simultaneous determination of promethazine and three of its metabolites in plasma using electrochemical and UV detectors," *Journal of Chromatographic Science*, vol. 39, no. 2, pp. 70–72, 2001.
- [30] L. Ţugulea and D. M. Găzdaru, Tehnici și metode experimentale în biofizică. București: Editura Universității din București, 2003.
- [31] M. L. Pascu, V. Nastasa, A. Smarandache, A. Militaru, A. Martins, M. Viveiros, M. Boni, I. R Andrei, A. Pascu, A. Staicu, et al., "Direct modification of bioactive phenothiazines by exposure to laser radiation," *Recent Patents* on Anti-Infective Drug Discovery, vol. 6, no. 2, pp. 147–157, 2011.
- [32] A. Smarandache, J. Kristiansen, J. B Christensen, and M. L. Pascu, "Optical studies of the spectral properties of phenothiazines," *Letters in Drug Design and Discovery*, vol. 9, no. 4, pp. 352–360, 2012.
- [33] Á. Simon and M. L. Pascu, "Interaction of medicines exposed to laser beams with fabrics of interest for biomedical applications," in *Laser Optofluidics in Fighting Multiple Drug Resistance* (M. L. Pascu, ed.), pp. 407–427, Sharjah, UAE: Bentham, 2017.
- [34] M. J. Rosen and J. T. Kunjappu, Surfactants and interfacial phenomena. John Wiley and Sons, 2012.
- [35] IAPWS, "Revised release on surface tension of ordinary water substance," Report No. R1-76, 2014.
- [36] K. L. Mittal, Advances in contact angle, wettability and adhesion, vol. 1. John Wiley & Sons, 2013.
- [37] J. Joanny and P.-G. De Gennes, "A model for contact angle hysteresis," The Journal of Chemical Physics, vol. 81, no. 1, pp. 552–562, 1984.
- [38] L. Gao and T. J. McCarthy, "Contact angle hysteresis explained," Langmuir, vol. 22, no. 14, pp. 6234–6237, 2006.
- [39] G. Bracco and B. Holst, Surface science techniques. Springer Science & Business Media, 2013.
- [40] Á. Simon, "Spin Your Thesis! 2015 final experiment report," Technical Report ESA-DGC-DET-2015-1291, ESTEC, ESA, Noordwijk, The Netherlands, 2016.
- [41] J. J. W. A. van Loon and A. Dowson, "Large Diameter Centrifuge (LDC) experimenter users manual," ESA-TECMMG-MAN-014129, vol. 3, pp. 1–33, 2019.
- [42] Á. Simon, A. Stoicu, T. Tozar, and M. Pascu, "Interaction of laser exposed non-antibiotic solutions with target surfaces in hypergravity conditions: ESA "Spin Your Thesis!" campaign," in 1st Symposium on Space Educational Activities, 2015.
- [43] Á. Simon, A. Stoicu, T. Tozar, I. R. Andrei, S. Simion, J. J. W. A. van Loon, A. Dowson, and M. Pascu, "Microvolumetric droplets in air in hypergravity conditions," in *Laser Optofluidics in Fighting Multiple Drug Resistance* (M. L. Pascu, ed.), pp. 428–445, Sharjah, UAE: Bentham, 2017.
- [44] J. J. W. A. van Loon, J. Krausse, H. Cunha, J. Goncalves, H. Almeida, and P. Schiller, "The Large Diameter Centrifuge, LDC, for life and physical sciences and technology," in *Life in Space for Life on Earth*, vol. 663, 2008.
- [45] K. Adachi and R. Takaki, "Vibration of a flattened drop. I. Observation," Journal of the Physical Society of Japan, vol. 53, no. 12, pp. 4184–4191, 1984.
- [46] R. Takaki and K. Adachi, "Vibration of a Flattened Drop. II. Normal Mode Analysis," Journal of the Physical Society of Japan, vol. 54, no. 7, pp. 2462–2469, 1985.
- [47] M. Strani and F. Sabetta, "Free vibrations of a drop in partial contact with a solid support," Journal of Fluid Mechanics, vol. 141, pp. 233–247, 1984.
- [48] R. W. Smithwick and J. A. M. Boulet, "Vibrations of microscopic mercury droplets on glass," Journal of Colloid and Interface Science, vol. 130, no. 2, pp. 588–596, 1989.
- [49] M. Strani and F. Sabetta, "Viscous oscillations of a supported drop in an immiscible fluid," Journal of Fluid Mechanics, vol. 189, pp. 397–421, 1988.
- [50] U. Olgac, D. Izbassarov, and M. Muradoglu, "Direct numerical simulation of an oscillating droplet in partial contact with a substrate," *Computers and Fluids*, vol. 77, pp. 152–158, 2013.
- [51] S. Ramalingam, D. Ramkrishna, and O. A. Basaran, "Free vibrations of a spherical drop constrained at an azimuth," *Physics of Fluids (1994-present)*, vol. 24, no. 8, p. 082102, 2012.
- [52] R. Takaki, "Self-induced vibration of a drop," Forma, 2015.

- [53] M. Perez, Y. Brechet, L. Salvo, M. Papoular, and M. Suery, "Oscillation of liquid drops under gravity: Influence of shape on the resonance frequency," *Europhysics Letters*, vol. 47, pp. 189–195, 1999.
- [54] H.-Y. Kim, "Drop fall-off from the vibrating ceiling," *Physics of Fluids*, vol. 16, no. 2, pp. 474–477, 2004.
- [55] D. Banks, C. Ajawara, R. Sanchez, H. Surti, and G. Aguilar, "Effects of liquid and surface characteristics on oscillation behavior of droplets upon impact," *Atomization and Sprays*, vol. 24, no. 10, 2014.
- [56] C. W. Extrand and S. I. Moon, "Contact angles of liquid drops on super hydrophobic surfaces: Understanding the role of flattening of drops by gravity," *Langmuir*, vol. 26, no. 22, pp. 17090–17099, 2010.
- [57] C. W. Extrand and S. I. Moon, "When sessile drops are no longer small: Transitions from spherical to fully flattened," *Langmuir*, vol. 26, no. 14, pp. 11815–11822, 2010.
- [58] C. E. Cansoy, "The effect of drop size on contact angle measurements of superhydrophobic surfaces," RSC Advances, vol. 4, no. 3, pp. 1197–1203, 2013.
- [59] R. J. Good and M. N. Koo, "The effect of drop size on contact angle," Journal of Colloid and Interface Science, vol. 71, no. 2, pp. 283–292, 1979.
- [60] Å. Simon, "DropTES 2018 final experiment report," technical report, ZARM, Bremen, Germany, 2019.
- [61] T. Könemann, "Bremen Drop Tower payload user's guide," technical report, ZARM, Bremen, Germany, 2022.
- [62] I. R. Andrei, T. Tozar, A. Dinache, M. Boni, V. Nastasa, and M. L. Pascu, "Chlorpromazine transformation by exposure to ultraviolet laser beams in droplet and bulk," *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 81, pp. 27–35, 2016.
- [63] G. C. Carle, G. Fogleman, and J. L. Huntington, "Space station gas-grain simulation facility: Microgravity particle research," in *The Space Congress Proceedings* 4, pp. (5)53–(5)62, 1988.
- [64] E. Snell and J. Helliwell, "Microgravity as an environment for macromolecular crystallization An outlook in the era of space stations and commercial space flight," Crystallography Reviews, vol. 27, no. 1, pp. 3–46, 2021.
- [65] D. Klaus, S. Simske, P. Todd, and L. Stodieck, "Investigation of space flight effects on Escherichia coli and a proposed model of underlying physical mechanisms," *Microbiology*, vol. 143, no. 2, pp. 449–455, 1997.
- [66] UNOOSA, Teacher's Guide to Plant Experiments in Microgravity. United Nations, New York, USA: Human Space Technology Initiative, 2013.
- [67] J. Karpińska, B. Starczewska, and H. Puzanowska-Tarasiewicz, "Analytical properties of 2-, and 10-disubstituted phenothiazine derivatives," Analytical Sciences, vol. 12, no. 2, pp. 161–170, 1996.
- [68] B. Laassis, J.-J. Aaron, and M. C. Mahedero, "Photochemically induced fluorescence determination of biomedically important phenothiazines in aqueous media at different ph values," *Analytica Chimica Acta*, vol. 290, no. 1-2, pp. 27–33, 1994.
- [69] A. Diana, M. Castillo, D. Brutin, and T. Steinberg, "Sessile drop wettability in normal and reduced gravity," *Microgravity Science and Technology*, vol. 24, no. 3, pp. 195–202, 2012.
- [70] D. Brutin, Z. Zhu, O. Rahli, J. Xie, Q. Liu, and L. Tadrist, "Sessile drop in microgravity: Creation, contact angle and interface," *Microgravity Science and Technology*, vol. 21, no. 1, pp. 67–76, 2009.
- [71] Z.-Q. Zhu, Y. Wang, Q.-S. Liu, and J.-C. Xie, "Influence of Bond number on behaviors of liquid drops deposited onto solid substrates," *Microgravity Science and Technology*, vol. 24, no. 3, pp. 181–188, 2012.

### Anexa A

## Contribuții proprii

### A.1 Lucrări publicate în reviste

#### Reviste indexate ISI

- 1. Á. Simon, T. Tozar, A. Smarandache, M. Boni, A. Stoicu, A. Dowson, J.J.W.A. van Loon, M.L. Pascu, Stability Studies of UV Laser Irradiated Promethazine and Thioridazine after Exposure to Hypergravity Conditions, Molecules 27(5), 1728, 2022 IF: 4.6, AIS: 0.659 Prim autor și autor corespondent
- Á. Simon, A. Smarandache, T. Tozar, I.R. Andrei, A. Stoicu, J.J.W.A. van Loon, A. Dowson, M.L. Pascu, Photoactive chlorpromazine and promazine drugs exposed to hypergravity conditions after interaction with UV laser radiation, Acta Astronautica 189, 260-268, 2021 – IF: 2.954, AIS: 0.544 – Prim autor și autor corespondent
- 3. Á. Simon, A. Smarandache, V. Iancu, M.L. Pascu, Stability of Antimicrobial Drug Molecules in Different Gravitational and Radiation Conditions in View of Applications during Outer Space Missions, Molecules 26(8), 2221, 2021 IF: 4.927, AIS: 0.671 Prim autor și autor corespondent
- 4. S. Nistorescu, G.G. Pircalabioru, A.M. Udrea, Á. Simon, M.L. Pascu, M.C. Chifiriuc, Laser-Irradiated Chlorpromazine as a Potent Anti-Biofilm Agent for Coating of Biomedical Devices, Coatings 10(12), 1230, 2020 - IF: 2.881, AIS: 0.405
- A. Dinache, A. Smarandache, A. Simon, V. Nastasa, T. Tozar, A. Pascu, M. Enescu, A. Khatyr, F. Sima, M.L. Pascu, A. Staicu, Photosensitized cleavage of some olefins as potential linkers to be used in drug delivery, Applied Surface Science 417, 136-142, 2017 – IF: 4.439, AIS: 0.627
- M.C. Morán, T. Tozar, A. Simon, A. Dinache, A. Smarandache, I.R. Andrei, M. Boni, M.L. Pascu, F. Cirisano, M. Ferrari, Toxicity study in blood and tumor cells of laser produced medicines for application in fabrics, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 137, 91-103, 2016 – IF: 3.887, AIS: 0.767
- A. Simon, T. Alexandru, M. Boni, V. Damian, A. Stoicu, V. Dutschk, M.L. Pascu, Interaction of solutions containing phenothiazines exposed to laser radiation with materials surfaces, in view of biomedical applications, International Journal of Pharmaceutics 475(1-2), 270-281, 2014 – IF: 3.65, AIS: 0.778 – Prim autor și autor corespondent

$$\begin{split} IF_{total} &= 27.338 \\ AIS_{total} &= 4.451 \end{split}$$

### Reviste indexate non-ISI

- 1. Á. Simon, A. Stoicu, T. Tozar, M.L. Pascu, Interaction of laser exposed non-antibiotic solutions with target surfaces in hypergravity conditions: ESA "Spin Your Thesis!" campaign, ESA Proceedings, Symposium on Space Educational Activities 2015, 9-12 decembrie 2015, Padova, Italia – **Prim autor**
- 2. A. Smarandache, **A. Simon**, T. Tozar, V. Nastasa, M.L. Pascu, Stability studies on Promethazine unexposed and exposed to UV laser radiation, Proceedings of SPIE, Physical Chemistry of Interfaces and Nano-materials XIV, 954916, SPIE Optics + Photonics, 9–13 august 2015, San Diego, California, Statele Unite ale Americii Autor corespondent

### A.2 Lucrări pregătite spre publicare

- 1. Á. Simon et al., Interaction of laser exposed phenothiazine droplets with target surfaces under microgravity conditions
- 2. A. Simon et al., Cotton surfaces impregnated with laser exposed phenothiazine droplets and subjected to hypergravity conditions in view of creating antimicrobial textiles for aerospace medicine applications
- 3. A. Simon et al., Interaction of laser exposed phenothiazine droplets with target surfaces under hypergravity conditions

### A.3 Lucrări prezentate la conferințe

### Lucrări prezentate la conferințe internaționale

#### Prezentări

- A. Simon, T. Tozar, A. Smarandache, A. Dinache, A.M. Udrea, I. Urzica, R. Pirvulescu, M.L. Pascu, Effects of Laser Radiation on Molecular Structures of Medical Interest in Normal and out of Normal gravity Conditions, Laser Florence 2019, 7-9 noiembrie 2019, Florența, Italia
- A. Simon, B.Ş. Călin, D.C. Trancă, M. Boni, I.R. Andrei, S. Simion, M. Bojan, I.S. Stroescu, M.L. Pascu, Interaction of laser exposed phenothiazine droplets with target surfaces approached in view of microgravity applications, ISCP-INDLAS 2018, 3-7 septembrie 2018, Alba Iulia, România – Best Oral Presentation
- Á. Simon, A. Stoicu, T. Tozar, I.R. Andrei, S. Simion, J.J.W.A. van Loon, A. Dowson, M.L. Pascu, Impact dynamics of laser modified medicine droplets on target surfaces under hypergravity conditions, Hypergravity Workshop, 25-26 ianuarie 2018, Noordwijk, Țările de Jos
- Á. Simon, I.R. Andrei, L. Frunză, I. Zgură, A. Dowson, J.J.W.A. van Loon, M.L. Pascu, Laser modified medicine droplets under hypergravity conditions, IONS KOALA 2017, 26 noiembrie – 1 decembrie 2017, Brisbane, Australia
- Á. Simon, A. Stoicu, T. Tozar, I.R. Andrei, L. Frunză, I. Zgură, A. Dowson, J.J.W.A. van Loon, M.L. Pascu, Laser modified medicine droplets in terrestrial and hypergravity conditions: Generation, behaviour and interaction with target surfaces of biomedical interest, IONS Balvanyos 2017, 25-28 iulie 2017, Bálványos, România
- 6. M.L. Pascu, A. Simon, I.R. Andrei, T. Tozar, A. Staicu, A. Dinache, A. Smarandache, M. Boni, Optofluidic properties of microdroplets to be used in biomedicine, IONS Balvanyos 2017, 25-28 iulie 2017, Bálványos, România
- A. Staicu, A. Dinache, A. Smarandache, A. Pascu, V. Nastasa, M. Boni, A. Simon, T. Tozar, I.R. Andrei, M. Enescu, M.L. Pascu, Light triggered drug complexes for targeted delivery, IONS Balvanyos 2017, 25-28 iulie 2017, Bálványos, România
- Á. Simon, I.R. Andrei, V. Damian, M.L. Pascu, Laser exposed medicine impregnated target surfaces subjected to simulated hypergravity condition, in view of space medicine applications, ATOM-N 2016, 25-28 august 2016, Constanța, România
- 9. Á. Simon, A. Stoicu, T. Tozar, I.R. Andrei, M.L. Pascu, UV laser modified medicine solutions in interaction with target surfaces under hypergravity conditions, IONS Québec 2016, 20-22 mai 2016, Québec, Canada
- 10. Á. Simon, Interaction of laser exposed non-antibiotic solutions with target surfaces in hypergravity conditions: ESA "Spin Your Thesis!" campaign, MicroMAST Spring School, 16-20 mai 2016, Bruxelles, Belgia
- 11. Á. Simon, A. Stoicu, T. Tozar, M.L. Pascu, Interaction of laser exposed non-antibiotic solutions with target surfaces in hypergravity conditions: ESA "Spin Your Thesis!" campaign, SSEA 2015, 9-12 decembrie 2015, Padova, Italia
- 12. A. Simon, A. Stoicu, T. Tozar, I.R. Andrei, V. Damian, M.L. Pascu, Direct modification of photosensitive nonantibiotics by exposure to UV laser radiation and their interaction with target surfaces: New process for drug discovery and delivery in view of space mission applications, Antibiotic resistance and antibiotic alternatives: Looking towards the future, 3-5 noiembrie 2015, Londra, Regatul Unit
- A. Simon, A. Stoicu, I.R. Andrei, T. Alexandru, A. Staicu, A. Smarandache, M.L. Pascu, Wetting properties of medicines solutions exposed to laser beams and treated in hypergravity conditions, SGI-FunD 2015, 29-31 octombrie 2015, Sofia, Bulgaria
- 14. A. Staicu, A. Dinache, A. Smarandache, T. Tozar, A. Pascu, V. Nastasa, M. Boni, A. Simon, I.R. Andrei, M. Enescu, M.L. Pascu, Photophysical studies of some compounds of interest in targeted drug delivery, ROMOPTO 2015, 1-4 septembrie 2015, București, România
- 15. A. Simon, T. Tozar, A. Stoicu, M. Boni, V. Damian, M.L. Pascu, Interaction of laser exposed non-antibiotic solutions with target surfaces, in view of biomedical applications: ESA "Spin Your Thesis!" campaign, ROMOPTO 2015, 1-4 septembrie 2015, București, România First Place Student Presentation
- 16. A. Simon, A. Smarandache, T. Tozar, V. Nastasa, R. Pirvulescu, M.L. Pascu, Stability studies on promethazine unexposed and exposed to UV laser radiation, SPIE Optics + Photonics, 9-13 august 2015, San Diego, California, Statele Unite ale Americii
- 17. A. Simon, T. Alexandru, M. Boni, V. Damian, A. Stoicu, V. Dutschk, M.L. Pascu, Phenothiazines exposed to 266 nm laser beam in interaction with fabric surfaces, in view of biomedical applications, DGaO Annual Meeting 2015, 26-29 mai 2015, Brno, Republica Cehă
- A. Simon, T. Tozar, M. Boni, V. Damian, V. Dutschk, M.L. Pascu, Biomedical applications of non-antibiotics exposed to UV laser radiation and their interaction with fabric surfaces, ISRMS 2015, 12-16 mai 2015, București, România

#### Postere

- Á. Simon, J.J.W.A. van Loon, M.L. Pascu, Wetting of laser modified medicine droplets under hypergravity conditions, SWEP 2018, 17-18 mai 2018, Brighton, Regatul Unit
- T. Tozar, M.C. Morán, A. Dinache, A. Smarandache, I.R. Andrei, A. Simon, M. Boni, F. Cirisano, M. Ferrari, M.L. Pascu, Cytotoxicity assay of phenotiazines exposed to 266 nm laser radiation for application on fibers used in biomedical processes, ROMOPTO 2015, 1-4 septembrie 2015, București, România
- 3. T. Tozar, A. Dinache, V. Nastasa, M. Boni, A. Simon, M.L. Pascu, UV photogenerated non-antibiotic drugs used in fighting multidrug resistance acquired by bacteria, ISRMS 2015, 12-16 mai 2015, București, România

#### Lucrări prezentate la conferințe naționale

#### Prezentări

- A. Simon, B.Ş. Călin, D.C. Trancă, I.S. Stroescu, I.R. Andrei, T. Könemann, M.L. Pascu, Interaction of laser irradiated phenothiazine droplets with Al surfaces under microgravity conditions: results of the Drop Tower Experiment Series 2018, SSFFB 2019, 21-22 iunie 2019, Măgurele, România
- Á. Simon, M. Boni, T. Tozar, M. Ferrari, M.L. Pascu, Foam generation and behaviour of unexposed and laser exposed medicine solutions in view of biomedical applications, SSFFB 2017, 23-24 iunie 2017, Măgurele, România
- Á. Simon, A. Stoicu, T. Tozar, J.J.W.A. van Loon, A. Dowson, M.L. Pascu, Laser treated chlorpromazine in interaction with target surfaces of biomedical interest: revelation of results obtained within ESA's "Spin Your Thesis!" programme, SSFFB 2016, 17 iunie 2016, Măgurele, România
- 4. A. Simon, T. Tozar, A. Stoicu, M. Boni, V. Damian, M.L Pascu, Biomedical applications of laser exposed medicines containing solutions in interaction with target surfaces: ESA "Spin Your Thesis!" programme, SSFFB 2015, 19 iunie 2015, Măgurele, România
- A. Smarandache, A. Simon, A. Dinache, T. Tozar, M. Boni, I.R. Andrei, M.C. Morán, F. Cirisano, M. Ferrari, M.L. Pascu, Stability of new laser produced medicines in view of their application on biomedical fabrics, SSFFB 2015, 19 iunie 2015, Măgurele, România

### A.4 Capitole de carte

- Á. Simon, M.L. Pascu, Interaction of medicines exposed to laser beams with fabrics of interest for biomedical applications, Laser Optofluidics in Fighting Multiple Drug Resistance, Ed. M.L. Pascu, Bentham Science Publisher, 407-427, 2017 – Prim autor
- Á. Simon, A. Stoicu, T. Tozar, I.R. Andrei, S. Simion, J.J.W.A van Loon, A. Dowson, M.L. Pascu, Microvolumetric droplets in air in hypergravity conditions, in Laser Optofluidics in Fighting Multiple Drug Resistance, Ed. M.L. Pascu, Bentham Science Publisher, 428-445, 2017 – Prim autor

### A.5 Proiecte

1. Orbit Your Thesis! 2019 – Propunere project septembrie 2018 Titlu: Micro- and optofluidic properties of laser exposed droplets containing medicine solutions, foams and emulsions in interaction with target surfaces under prolonged microgravity conditions Etapă finală de selecție: 17 octombrie 2018, ESTEC, ESA, Noordwijk, Țările de Jos 2. Zero-Gravity Instrument Project - Conducător de proiect Titlu: Effect of clinorotation on the stability of UV laser irradiated phenothiazine solutions Finanțare: UNOOSA Valoare finantare: 1800 EUR Derulare proiect: aprilie 2018 – aprilie 2020 3. Drop Tower Experiment Series 2018 - Coordonator de proiect Titlu project: Interaction of laser exposed medicine droplets with target surfaces under microgravity conditions Finanțare: UNOOSA, DLR Space Administration, ZARM Valoare finanțare: 27 500 EUR Derulare proiect: aprilie 2018 – februarie 2019 Campanie de experimente: 19-30 noiembrie 2018, ZARM Drop Tower, Bremen, Germania 4. Fly Your Thesis! 2017 – Propunere project mai 2016 Titlu: Effect of parabolic flight on interaction of medicines exposed to UV laser radiation with target surfaces

5. Spin Your Thesis! 2015 – Conducător de proiect Titlu: Interaction of laser exposed medicines with target surfaces and volumes in hypergravity conditions Finanțare: ESA Education Office Valoare finanțare: 5000 EUR + cheltuieli utilizare facilitate Derulare proiect: februarie 2015 – februarie 2016 Campanie de experimente: 14-18 septembrie 2015, LDC, ESTEC, ESA, Noordwijk, Țările de Jos

### A.6 Stagii

Short Term Scientific Mission, European Cooperation in Science and Technology, Action MP1106
Titlu: Behaviour of emulsions, foams and medicine solutions exposed to laser radiation at interaction with solid
surfaces in view of biomedical applications
Derulare stagiu: 9-23 martie 2015, Consiglio Nazionale delle Ricerche – Istituto per l'Energetica e le Interfasi, Genova,
Italia

### A.7 Școli

- 1. Krüss, Training course in surface tension and contact angle, 17-18 septembrie 2019, Bristol, Regatul Unit
- 2. MicroMAST Spring School, Surface tension and wetting, 16-20 May 2016, Bruxelles, Belgia
- 3. European Cooperation in Science and Technology, Action ENTER, Advanced course on detection, quanti-fication and modelling strategies for environmental Engineered NanoMaterials, 3-5 martie 2015, Belvaux, Luxemburg

### A.8 Burse, granturi și premii

### Burse

- 1. Optics and Photonics Education Scholarship, SPIE, mai-noiembrie 2019
- 2. Bursă Doctorală, Universitatea din București, octombrie 2014 septembrie 2017

### Granturi

- IONS KOALA 2017 Travel Grant
   IONS KOALA 2017, 26 noiembrie 1 decembrie 2017, Brisbane, Australia
   Finanțare: organizatorii IONS KOALA 2017 și Universitatea din București (fonduri de cercetare din granturi doctorale pentru susținerea participării la manifestări științifice naționale și internaționale)
- OSA Student Chapter Officer Travel Grant OSA Student Leadership Conference 2017 și FiO+LS 2017, 18-21 septembrie 2017, Washington D.C., Statele Unite ale Americii Finanțare: OSA
- IONS Conference Grant pentru organizarea IONS Balvanyos 2017
   IONS Balvanyos 2017, 25-28 iulie 2017, Bálványos, România Organizator/Chair Finanțare: OSA
   Valoare finanțare: 5000 USD
- 4. OSA Student Chapter Officer Travel Grant OSA Student Leadership Conference 2016 și FiO+LS 2016, 17-21 octombrie 2016, Rochester, New York, Statele Unite ale Americii Finantare: OSA
- IONS Québec 2016 Travel Grant IONS Québec 2016, 20-22 mai 2016, Québec, Canada Finanțare: organizatorii IONS Québec 2016
- 6. Travel Grant

Antibiotic resistance and antibiotic alternatives: Looking towards the future, 3-5 noiembrie 2015, Londra, Regatul Unit

Finanțare: Universitatea din București (fonduri de cercetare din granturi doctorale pentru susținerea participării la manifestări științifice naționale și internaționale)

- 7. SPIE Student Chapter Officer Travel Grant SPIE Student Chapter Leadership Workshop 2015 și SPIE Optics + Photonics 2015, 8-13 august 2015, San Diego, California, Statele Unite ale Americii Finanțare: SPIE
- 8. Short Term Scientific Mission Grant Consiglio Nazionale delle Ricerche – Istituto per l'Energetica e le Interfasi, 9-23 martie 2015, Genova, Italia Finanțare: European Cooperation in Science and Technology, Action MP1106
- 9. Travel Grant

Advanced course on detection, quantification and modelling strategies for environmental Engineered Nano-Materials, Luxembourg Institute of Science and Technology – Centre de Recherche Public Gabriel Lippmann, 3-5 martie 2015, Belvaux, Luxemburg

Finanțare: European Cooperation in Science and Technology, Action ENTER

### Premii

- 1. Best Oral Presentation, Interaction of laser exposed phenothiazine droplets with target surfaces approached in view of microgravity applications, ISCP-INDLAS 2018, 3-7 septembrie 2018, Alba Iulia, România
- 2. First Place Student Presentation, Interaction of laser exposed non-antibiotic solutions with target surfaces, in view of biomedical applications: ESA "Spin Your Thesis!" campaign, ROMOPTO 2015, 1-4 septembrie 2015, București, România