

# Polymer immobilization to metal oxide substrates through catechol derivatives as surface anchors

**Doctoral Thesis**

**Author(s):**

Malisova, Barbora

**Publication date:**

2010

**Permanent link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-006253027>

**Rights / license:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

DISS. ETH NO. 19307

**Polymer Immobilization to Metal Oxide Substrates  
through Catechol Derivatives as Surface Anchors**

A dissertation submitted to

ETH Zurich

for the degree of

Doctor of Sciences

presented by

Barbora Malisova

Master, University of Chemistry & Technology (VSCHT), CZ

Born on April 20, 1979

citizen of Czech Republic

accepted on recommendation of

Prof. Dr. Marcus Textor, examiner

Prof. Dr. Karl Gademann, co-examiner

Prof. Dr. Markus Niederberger, co-examiner

Dr. Stefan Zürcher, co-examiner

2010

## Abstract

There is a general interest and need for surface modifications for tailoring the properties of materials devices and providing additional functionalities. This covers applications such as lubrication, corrosion protection as well as biomedical applications. For the later one of the important areas covers approaches to generate biocompatible surfaces by controlling non-specific protein adsorption. Examples of applications include blood-contacting devices such as stents, biosensors in genomics, proteomics and glycomics, as well as the stabilization (dispersion) of micro- and nanoparticles for drug delivery or medical imaging, providing longer circulation times in the body.

Polymeric films are particularly attractive for providing non-fouling properties to surfaces. Among others, poly(ethylene glycol), PEG, has been widely used for this purpose due to its known outstanding properties, low toxicity and immunogenicity. Frequently used methods for the immobilization of polymers to metals, oxides or polymeric substrates (via thiols, phosph(on)ates, silanes or polyelectrolyte interactions) are, however, limited in terms of substrate choice and/or binding strength that can be achieved. The method used in this thesis combines two approaches inspired by adhesives and chelators found in mussels and cyanobacteria, respectively. In the first case, mussel adhesive proteins are known to contain high proportion of 3,4-dihydroxy phenylalanine (DOPA) that play an essential role in the adhesion of the mussel to a variety of substrate types, while in the latter case, cyanobacteria, use highly specialized siderophores (anachelin) to strongly coordinate Fe(III) ions in (sea) water.

Building upon published work, we have aimed first to search for catechol derivatives that potentially show a higher affinity for surfaces than the reference DOPA anchor. Our interests further focused on a better understanding of the binding mechanism of different functionalized catechol derivatives on selected metal oxides with the aim of

finding design rules for catechol-based anchors with higher binding strength for three important substrates, titanium oxide, niobium oxide and silicon oxide or glass.

To this end, we synthesized a set of PEG-polymers differing in their catechol binding sites (chemical structure, acidity and charge). Their adsorption and stability properties together with the ability to resist protein adsorption were analyzed by variable angle spectroscopic ellipsometry (VASE), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and ultraviolet-visible spectroscopy (UV-VIS) while different polymer adsorption parameters, pH and temperature of the assembly solution as well as different substrates were investigated.

Our results showed that an increased acidity of the catecholic hydroxy groups improves molecular coverage and stability of the monomolecular adlayers when exposed to buffer solution for up to 24 h. mPEG-anacat and mPEG-nitrodopamine proved to be particularly attractive polymers in the terms of high PEG brush density and stability against oxidation in solution when compared to DOPA controls. A certain drawback of the former one is its demanding multiple-step synthesis. In general, adsorption conditions (*pH* and temperature of assembly solution) strongly influenced surface coverage. For high surface coverage, a *pH* of the assembly solution that is close to  $pK_a$  (dissociation of the first hydroxy group) of the catechol and the isoelectric point (*IEP*) of the substrate, and a temperature close to the cloud point temperature,  $T_{CP}$ , were shown to be optimal. We have also noticed a subtle dependence of the cloud-point temperature to both, the type of catechol derivative and the *pH* buffer system.

The resistance of the PEGylated surfaces to full serum protein adsorption correlated quantitatively with the PEG surface density confirming the importance of high PEG surface density (brush conformation) for the generation of non-fouling surfaces.

Our studies of PEG polymers having two catechol anchors demonstrated, that an optimum conformation (three-dimensional structure) of the molecules is crucial for the establishment of multivalent surface binding and exploitation of improved stability in comparison to the mono-catechol polymers.

In the last part of the thesis we have used atomic force microscopy (AFM) to study single molecule interaction of selected catechols on  $TiO_2$ . We have managed to optimize the sample preparation protocols (surface modification of  $SiO_2$  wafer, presenting the catechols and interacting with  $TiO_2$ -coated AFM tips) allowing us to

perform multiple force-distance (F-D) measurements resulting in the recording of single molecules bond rupture events with a probability of  $\sim 10\%$ . Assuming a reasonable length for the bond between the catechol and Ti ion, the data analysis revealed bond energies that were lower when compared to published data. A possible reason for this finding could be some indication in the force histograms for two different binding states of the catechol, e.g. mono and bidentate conformation as has been proposed in the literature based on other information.

# Summary

Die Möglichkeit, durch Oberflächenmodifikationen Änderungen der Materialeigenschaften hervorzurufen oder zusätzliche Funktionen zu generieren, sind von grossem Interesse und umfassen ein grosses Anwendungsfeld, zum Beispiel im Zusammenhang mit Schmiermitteln, Korrosionsschutz bis zu biomedizinischen Anwendungen. Bei den letzteren wird vor allem versucht, biologisch verträgliche Oberflächen zu erzeugen, unter anderem durch eine verbesserte Kontrolle unspezifischer Proteinadsorption. Beispiele sind medizintechnische Geräte, welche in Kontakt mit dem Blutkreislauf stehen, wie Stents, Biosensoren wie auch die Stabilisierung von Mikro- und Nanopartikeln für Anwendungen im Bereich des Drug Delivery oder medizinischer Bildgebung, mit dem Ziel verlängerter Blutzirkulationszeit.

Um eine Resistenz gegen unspezifische Proteinadsorption zu erreichen, sind Polymerbeschichtungen besonders gut geeignet. Neben anderen Polymeren wird hauptsächlich Polyethylenglykol (PEG) für diesen Zweck eingesetzt, da es hervorragende Eigenschaften aufweist, wie niedrige Toxizität und Immunogenität. Häufig benutzte Methoden zur Oberflächenimmobilisierung auf Metall-, Oxid- oder Polymersubstraten (via Thiol-, Phosph(on)at- und Silanchemie oder elektrostatischer Wechselwirkungen) sind jedoch beschränkt in der Substratwahl und/oder der Stabilität und Stärke der Bindung. Der Ansatz, der in dieser Arbeit verfolgt wurde, kombiniert zwei von der Natur inspirierte Ansätze, abgeleitet von Muscheln und Cyanobakterien. Im ersten Fall ist bekannt, dass das Muscheladhäsionsprotein einen hohen prozentualen Anteil an 3,4-Dihydroxy-phenylalanin (DOPA) besitzt, welches für die Adhäsion der Muscheln auf verschiedenen Substratoberflächen eine entscheidende Rolle spielt. Im andere Fall nutzen Cyanobakterien hoch spezifische Siderophore, um Eisen (III) Ionen in Meerwasser stark zu binden.

Im ersten Schritt wurde nach Catecholderivaten gesucht, welche möglicherweise eine höhere Affinität für Oberflächen aufweisen als das Referenzmolekül DOPA. Zusätzlich galt unser Interesse dem besseren Verständnis des Bindungsmechanismus der verschiedenen DOPA Derivate auf ausgesuchten Metalloxidoberflächen. Des Weiteren sollten Designkriterien gefunden werden für Catechol-basierte Anker-Gruppen mit erhöhter Bindungsstärke zu drei wichtigen Substraten: Titanoxid, Nioboxid, Siliziumoxid bzw. Glas.

Zu diesem Zweck wurden PEG-basierte Polymere mit unterschiedlichen Catecholderivaten bezüglich chemische Struktur, Azidität und Ladung synthetisiert. Ihre Adsorption, Stabilität und die Resistenz gegen Proteinadsorption wurden mittels Ellipsometrie (VASE), Röntgen-Photoelektronenspektroskopie (XPS) und UV-Vis-Spektroskopie (UV-VIS) untersucht, wobei der Einfluss von verschiedenen Parametern wie pH und Temperature der Adsorptionslösung, sowie Art des Substrats systematisch untersucht wurde.

Unsere Resultate zeigen, dass eine Erhöhung der Azidität der Hydroxygruppen am Brenzcatechin die molekulare Flächenbedeckung und die Stabilität der monomolekularen Schichten verbessert. Besonders mPEG-Anacat und mPEG-Nitrodopamin zeigten die besten Ergebnisse in Bezug auf die erreichte PEG-Schichtdicke und Resistenz gegenüber unerwünschter Oxidation in Lösung. Ein Nachteil ist die mehrstufige Synthese von Anacat. Im allgemeinen hängt die Oberflächenbedeckung stark von den Adsorptionsbedingungen ab (pH und Temperatur der Adsorptionslösung). Für eine dichte Oberflächenbedeckung war ein pH-Wert optimal, welcher nahe dem  $pK_a$  des Catechols (Dissoziationskonstante der ersten Hydroxygruppe) und dem isoelektrischer Punkt (IEP) des Substrates lag. Des Weiteren wurde festgestellt, dass die unterschiedlichen Catecholderivate einen Einfluss auf die PEG Cloud-point Temperatur haben.

Die Resistenz der mit PEG modifizierten Oberflächen gegenüber Proteinadsorption korrelierte quantitativ mit der PEG Oberflächendichte, was die Wichtigkeit von hohen PEG-Oberflächendichten (Bürsten-Konformation) für die Reduktion unspezifischer Proteinadsorption belegt.

Unsere Studien von PEG Polymeren mit zwei Catecholankergruppen zeigen, dass eine optimale Konformation (dreidimensionale Anordnung) der Moleküle entscheidend ist,

um multivalente Oberflächenbindungen eingehen und die Oberflächenstabilität verbessern zu können, im Vergleich zu Monocatechol Polymeren.

Im letzten Teil der Arbeit wurden mittels AFM Wechselwirkungen zwischen einzelnen ausgewählten Catecholen und  $\text{TiO}_2$  untersucht. Wir konnten die Probenherstellung (Oberflächenmodifikation der  $\text{SiO}_2$  Wafer-Proben) in der Art optimieren, dass mehrere Kraft-Distanz (F-D) Messungen durchgeführt werden konnten, die zu Bindungsbruch führten (Wahrscheinlichkeit eines solchen Ereignisses  $\sim 10\%$ ). Unter Annahme einer realistischen Bindungslänge der Titan-Sauerstoff Bindung zwischen der Titanoxidoberfläche und dem Catechol-Molekül, ergab die Datenanalyse niedrigere Bindungsenergien verglichen mit publizierten Werten. Der Grund für die Abweichung könnte in der Präsenz von zwei verschiedenen Kraftverteilungen sein, welche einem ein- und zweizähligen Bindungsmechanismus für die Catechole auf  $\text{TiO}_2$  entspricht, der auch in der Literatur vorgeschlagen wurde.