

# Cercetari privind imobilizarea catalazei pe micro- si nanoparticule pentru aplicatii medicale



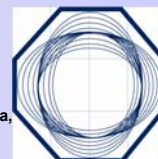
Gabriela PAUN<sup>1</sup>, Elena NEAGU<sup>1</sup>, Viorica PARVULESCU<sup>2</sup>, Mihaela MURESEANU<sup>3</sup>,  
Gabriel Lucian RADU<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Științe Biologice - Centrul de Bioanaliză, Splaiul Independenței nr. 296, București, România,

Tel/Fax: +40-21-223.90.70; +40-21-220.09.00; e-mail: [gabrielaroman2000@yahoo.com](mailto:gabrielaroman2000@yahoo.com)

<sup>2</sup> Institute of Physical Chemistry, Splaiul Independenței 202, 060021 Bucharest, Romania

<sup>3</sup> University of Craiova, Calea București 1071, Craiova, Romania



## REZUMAT

Lucrarea prezintă obținerea și caracterizarea unor micro- și nanoparticule din chitosan, poli(acrilonitril), polisulfona, polisulfona în care se încorporează silice funcționalizată și silice funcționalizată cu Cu(II). În cazul ultimului tip de suport care conține un complex de Cu(II) s-a urmărit influența ionului metalic asupra randamentului de imobilizare a enzimei.

Microparticulele de chitosan au fost preparate printr-o metodă de coacervare în mediu apos, iar suporturile pe baza de polisulfona și poli(acrilonitril) au fost preparate prin metoda inversiei de fază.

Supporturile obținute au fost caracterizate din punct de vedere structural prin microscopie electronică de baleiaj SEM și au fost testate după reticulare cu o soluție 2,5% de glutaraldehidă pentru imobilizarea catalazei.

S-au obținut randamente de imobilizare a catalazei cuprinse între 71,5% și 99,3%, randamentul cel mai ridicat obținându-se pentru microparticulele de chitosan.

De asemenea, s-a studiat influența unor parametri fizici (temperatura și pH) asupra activității enzimei imobilizate. S-a constatat că temperatura optimă a enzimei imobilizate este de 30°C, iar pH-ul optim este 7.

Dintre enzimele imobilizate cu aplicații medicale catalaza (E.C.1.11.1.6) poate fi utilizată în tratarea proceselor inflamatorii datorită capacității antioxidante ridicate. De asemenea, ajută ai în prevenirea modificărilor distructive la nivel celular, cum ar fi ruperea lanțului ADN care poate conduce, eventual, la diferite forme de cancer sau la alte boli cronice și degenerative.

Fig.3 Imagine SEM microparticule compozite polisulfona-silice funcționalizată cu Cu(II)

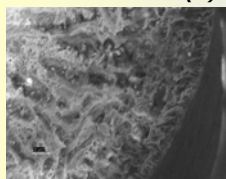


Fig.4 Imagine SEM suprafața microparticula din poli(acrilonitril)

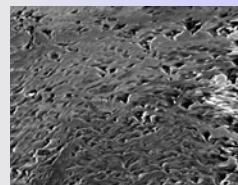
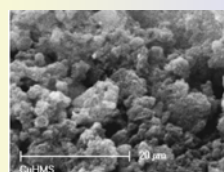


Fig.5 Imagine SEM nanoparticule de silice funcționalizată cu Cu(II)



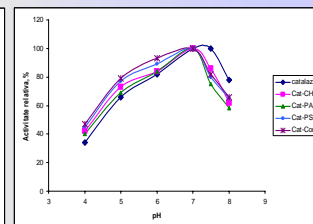
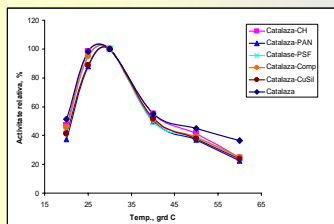
## Imobilizarea catalazei pe micro- si nanoparticule

Determinarea activității enzimice a catalazei imobilizate s-a realizat urmărind spectrofotometric diminuarea concentrației de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> timp de 3 minute la 240 nm [5].

### Randamentul de imobilizare a catalazei pe micro- si nanoparticule

Nr. crt.	Tip suport	A.E. specif. U/mg suport	Randament de imobilizare %
1	Microparticule din chitosan	0.027	99.3
2	Microparticule din poli(acrilonitril)	0.024	82.4
3	Microparticule din polisulfona	0.023	90.7
4	Microparticule compozite polisulfona-silice funcționalizată cu Cu(II)	0.028	91.5
5	Nanoparticule de silice funcționalizată cu Cu(II)	0.022	71.5

### Influența temperaturii și pH-ului asupra activității catalazei imobilizate

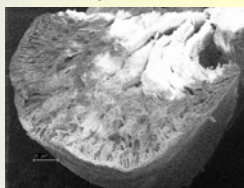


## PARTE EXPERIMENTALA

- **Microparticulele** din chitosan, au fost obținute printr-o metodă de coacervare în mediu apos (soluție de NaOH 5%) [1-3].
- **Microparticulele** din polisulfona, poli(acrilonitril) și compozite polisulfona-silice funcționalizată cu Cu(II) au fost obținute prin metoda inversiei de fază, prin precipitare în apa bidistilată. Soluțiile polimerice au fost preparate din polisulfona, respectiv poli(acrilonitril) dizolvate în dimetilformamidă.
- **Nanoparticulele** din silice mezoporoasă au fost sintetizate utilizând dodecilamina ca template și TEOS ca precursor de silice și ulterior au fost funcționalizate cu complecși de cupru (ex. [Cu(acac)(phen)(H<sub>2</sub>O)]ClO<sub>4</sub> și [Cu(acac)(Me<sub>2</sub>bipy)]ClO<sub>4</sub>) [4]; diametrul mediu = 3,5 nm.
- **Caracterizarea suporturilor** - prin microscopie electronică de baleiaj SEM (Scanning Electron Microscope Philips XL-20, la 20 kV)
- **Imobilizarea catalazei** pe suporturi - prin adsorbție fizică după reticularea suporturilor cu glutaraldehidă. Suporturile utilizate au fost:
  - microparticule din chitosan, poli(acrilonitril), polisulfona, polisulfona în care se încorporează silice funcționalizată cu Cu(II);
  - nanoparticule de silice funcționalizată cu Cu(II).
- În cazul suporturilor care conțin un complex de Cu(II) s-a urmărit influența ionului metalic asupra randamentului de imobilizare a enzimei.
- **Imobilizarea catalazei** pe suporturi - prin adsorbție fizică după reticularea suporturilor cu glutaraldehidă 2,5% timp de 1 h.

### Rezultate obținute

Fig.1 Imagine SEM microparticule din chitosan Fig.2 Imagine SEM microparticule din polisulfona



## CONCLUZII

- Au fost obținute prin procedee simple și caracterizate microparticule din diferiți polimeri (chitosan, poli(acrilonitril) și polisulfona) și compozite din polisulfona și silice funcționalizată cu complecși de cupru.
- Microparticulele preparate precum și un suport de tip nanoparticule de silice funcționalizată cu complecși de Cu(II) au fost testate la imobilizarea catalazei.
- S-au obținut randamente de imobilizare a catalazei cuprinse între 71,5% și 99,3%, randamentul cel mai ridicat obținându-se pentru microparticulele de chitosan.
- S-au studiat parametrii ce influențează activitatea catalitică a enzimei libere și imobilizate, constatând că temperatura optimă a enzimei imobilizate este de 30°C, iar pH-ul optim este 7.

### Referințe bibliografice

1. Şenay Akkuş Çetinus, Ebru Şahi, Dursun Saraydin, Food Chemistry 114, 2009, 962-969
2. Gabriela Paun Roman, Neagu Elena, Teodor Eugenia, G.L.Radu, Revista de Chimie, Vol.59, nr.2, 2008, 260-266
3. Gabriela PAUN, Elena NEAGU, Veronica MOROEANU, Gabriel Lucian, Progres in Nanoscience and Nanotechnologies, Series in Micro and Nanoengineering, vol.11, Ed. Academiei Romane, 2007, 193-201
4. M. Mureseanu, V. Parvulescu, R. Ene, N. Cioatera, T. D. Pasatoiu, M. Andruh, Cu(II) complexes immobilized on functionalized mesoporous silica as catalysts for biomimetic oxidations, J Mater Sci. 44, 2009, 6795-6804
5. Aebi, H., UV-assay of catalase. In: Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H. U., ed. Verlag Chemie, Weinheim, Germany), vol. 2, 1974, p. 673-678