

**Universitatea „Babeș – Bolyai“ Cluj – Napoca Facultatea de Chimie și
Inginerie Chimică
Catedra de Chimie-Fizică**

**Metode cinetice și electrochimice de analiză a unor medicamente
bazate pe reacții catalizate enzimatic și eterogen**

Rezumatul tezei de doctorat

Florina Făgădar (Pogăcean)

Conducător științific:

Prof. Univ. Dr. Ioan Bâldea

CLUJ-NAPOCA

2011

**Universitatea „Babeş – Bolyai“ Cluj – Napoca Facultatea de Chimie și
Inginerie Chimică
Catedra de Chimie-Fizică**

Florina Făgădar (Pogăcean)

**Metode cinetice și electrochimice de analiză a unor medicamente bazate pe
reacții catalizate enzimatic și eterogen**

Rezumatul tezei de doctorat

Comisia:

Președinte:

Prof. Univ. Dr. Cornelia Majdik - decan al Facultății de Chimie și Inginerie Chimică, Cluj-Napoca

Conducător științific:

Prof. Univ. Dr. Ioan Bâldea

Referenți:

Prof. Univ. Dr. Elena Maria Pică-Universitatea Tehnică, Cluj-Napoca, Facultatea de Ingineria materialelor și a mediului

Conf. Dr. Graziella Liana Turdean- Universitatea „Babeş – Bolyai“ Cluj – Napoca, Facultatea de Chimie și Inginerie Chimică

C. P. II, Dr. Stela Pruneanu – Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Tehnologii Izotopice și moleculare Cluj-Napoca, (INC DTIM).

CUPRINS

INTRODUCERE	1
Capitolul 1. Considerații generale ale reacțiilor catalizate enzimatic și modul de urmărire al acestora.	4
1.1. Cinetica reacțiilor enzimaticе.....	4
1.2. Modele de liniarizări.....	7
1.3. Inhibarea reacțiilor enzimaticе.....	10
1.4. Frația de inhibiție.....	18
1.5. Modele de inhibiție reversibilă.....	24
1.6. Determinarea grafică a tipului de inhibitor.....	26
1.7. Noțiuni generale despre senzorul de Oxigen de tip Clark.....	32
1.8. Noțiuni generale despre metodele spectrofotometrice.....	34
1.9. Noțiuni generale despre metodele voltametrice.....	36
1.10. Noțiuni generale despre spectroscopia de impedanță.....	40
Capitolul 2. Cinetica și mecanismul reacției de descompunere a H₂O₂ catalizate de peroxidază prin inhibare cu fenol	44
2.1. Peroxidaza: prezentare generală.....	44
2.2. Clasificarea peroxidazelor.....	46
2.3. Structura enzimei.....	48
2.4. Mecanismul reacției peroxidazice.....	50
2.5. Procedee de extracție și purificare a peroxidazei din hrean.....	52
2.6. Cinetica reacției.....	53
Contribuții originale	
2.7. Reactivi și soluții.....	54
2.8. Principiul metodei de extragere a peroxidazei din hrean.....	55
2.9. Principiul metodei amperometrice.....	55
Concluzii	64
Capitolul 3 Descompunerea apei oxigenate catalizate de catalază utilizând medicamente ca și inhibitori	65
3.1. Catalaza: prezentare generală.....	65
3.2. Mecanismul reacției catalitice.....	66
3.3. Medicamente utilizate ca și inhibitori ai reacției de descompunere a apei oxigenate.....	67
3.4. Medicamente β-blocante- caracteristici generale.....	70
3.5. Atenolol, Metoprolol. Prezentare generală.....	74
3.6. Farmacocinetică.....	74
3.7. Efectul atenolului și metoprololului.....	74
Contribuții originale	
3.8. Reactivi și soluții.....	75
A) Metoda spectrofotometrică de determinare a atenololului.....	76
3.9. Rezultate și discuții.....	76
B). Metoda amperometrică de determinare a atenololului.....	76
3.10. Rezultate și discuții.....	80
A) Metoda spectrofotometrică de determinare a metoprololului...	83
3.11. Rezultate și discuții.....	83
B). Metoda amperometrică de determinare a metoprololului.....	85
3.12. Rezultate și discuții.....	85
3.13. Influența factorilor de mediu asupra activității enzimaticе.....	89
Concluzii	92

Capitolul 4 Studiul oxidării atenololului utilizând un electrod de cărbune sticlos modificat cu nanoparticule de Aur	94
Contribuții originale	
Parte experimentală.....	96
4.1 Reactivi și soluții.....	96
4.2.Prepararea soluției de nanoparticule de aur (AuNPs).....	97
4.3.Prepararea electrodului de grafit (GCE) pentru depunerea de nanoparticule de aur (AuNPs) pe suprafața sa.	97
4.4.Aparatura utilizată.....	98
4.5.Rezultate și discuții.....	99
4.6. Caracterizarea electrochimică a electrodului nanostructurat, GCE-AuNPs	106
Concluzii	123
Capitolul 5. Studiul oxidării carbamazepinei utilizând un electrod de aur modificat cu grafene și nanoparticule de aur	
5.1. Caracteristici generale ale moleculei de carbamazepină.....	124
5.2. Reactivi și soluții.....	128
5.3. Prepararea electrodului de aur modificat cu grafene și nanoparticule de aur (Au-GR-AuNPs)	128
5.4. Aparatura utilizată.....	129
5.5. Rezultate și discuții.....	130
5.6. Caracterizarea electrochimică a electrodului modificat cu nanoparticule de aur și grafene	132
Concluzii	144
Concluzii generale	145
Bibliografie	147

Introducere

Scopul acestei lucrări este de a studia metodele cinetice și electrochimice de analiză a unor medicamente bazate pe reacții catalizate enzimatic și eterogen.

Lucrarea este alcătuită din 5 capitole principale:

În primul capitol sunt prezentate aspecte teoretice legate de reacțiile catalizate enzimatic și modul de urmărire al acestora. Tot aici sunt prezentate aspectele generale ale cineticii reacțiilor enzimatică, modelele de liniarizări utilizate, inhibarea reacțiilor enzimatică și tipurile de inhibitori, fracția de inhibiție. De asemenea se face referire la metodele analitice utilizate: metode spectrofotometrice, amperometrice, voltametrice, spectroscopie de impedanță.

Al doilea capitol este consacrat studiului procesului de inhibiție a fenolului asupra reacției de descompunere a H_2O_2 catalizate de peroxidază. S-au realizat măsurători atât cu peroxidază pură, cât și cu peroxidază extrasă din hrean.

În cadrul acestui capitol, s-au determinat parametrii cinetici, constantele de inhibiție, s-a stabilit mecanismul de inhibiție pentru fenol și s-a pus la punct o metodă de extragere a peroxidazei din hrean.

Al treilea capitol prezintă descompunerea apei oxigenate catalizate de catalază utilizând diverse medicamente ca și inhibitori (atenolol, metoprolol).

Și în acest capitol s-au determinat parametrii cinetici, constantele de inhibiție, pentru atenolol și metoprolol atât prin metoda spectrofotometrică, cât și prin metoda amperometrică. S-a stabilit mecanismul de inhibiție pentru atenolol și metoprolol.

S-a încercat punerea la punct a unor metode de determinare a acestor medicamente.

Capitolul 4 prezintă studiul oxidării atenololului utilizând un electrod de cărbune sticlos, GCE, a cărui suprafață a fost modificată cu aminoacizi și nanoparticule de aur, prin voltametrie liniară și spectroscopie de impedanță.

Oxidarea atenololului s-a realizat pe două decade de concentrații (10^{-6} - 10^{-4} M) cu o limită de detecție de $3,9 \times 10^{-7}$ M

Din măsurătorile de spectroscopie de impedanță s-a realizat un circuit electric echivalent în bună concordanță cu datele experimentale și care permite determinarea parametrilor electrici.

În capitolul 5 al acestei lucrări se prezintă studiul oxidării carbamazepinei utilizând un electrod de aur modificat cu grafene prin voltametrie liniară și spectroscopie de impedanță. Și în cazul acestui capitol s-a realizat un circuit electric echivalent, în bună concordanță cu datele experimentale și care permite determinarea parametrilor electrici.

Capitolul 1. Considerații generale ale reacțiilor catalizate enzimatic și modul de urmărire al acestora.

1.1. Cinetica reacțiilor enzimatic

În cele mai multe cazuri, enzimele sunt catalizatori atât de eficienți încât au o acțiune importantă chiar la concentrații extrem de mici. [1]. Se va discuta aici mecanismul cel mai simplu cu puțință, implicând doar un singur substrat. Cercetarea cineticii pentru procesele enzimatic se face de regulă urmărind viteza de reacție la diferite concentrații crescătoare de substrat și menținând concentrația de enzimă constantă. Făcând astfel de măsurători de viteză, se obține o dependență a vitezei de concentrația substratului prezentată calitativ în figura 1.1.1. La concentrații destul de mari de substrat se atinge o valoare maximă (r_{\max}), care este direct proporțională cu concentrația totală de enzimă $[E]_0$.

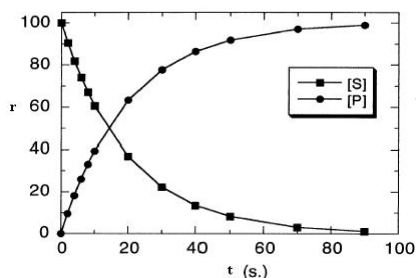


Figura 1.1.1. Reprezentarea schematică a vitezelor inițiale în funcție de concentrația de substrat la concentrație constantă de enzimă.

Această dependență a fost descrisă de către Michaelis și Menten, printr-un mecanism simplu [2]. Ecuațiile cinetice pentru reacțiile catalizate de enzime au fost analizate pentru un singur substrat, pentru care mecanismul propus este următorul:



S și P reprezintă substratul și respectiv produsul, iar ES este un intermediar sau complex enzimă-substrat. Ecuația de viteză are următoarea formă:

$$r = [S] \frac{k_2 [E]_0}{[S] + \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}} = \frac{r_{\max}}{[S] + K_M} [S] \quad (1.1.8)$$

Această ecuație, prezentând dependența vitezei de concentrația substratului, este concordantă cu experiența și explică figura 1.1.1. Raportul ce cuprinde cele trei constante de viteză $(k_{-1} + k_2)/k_1 = K_M$ se numește constanta Michaelis pentru substrat. Cu toate că se obișnuiește să se noteze cu K_M , aceasta nu este o constantă de echilibru. Constanta Michaelis

definește concentrația de stare staționară $[E][S]/[ES]$, ea se poate determina din figura 1.1.1., ca fiind egală cu concentrația de substrat corespunzătoare jumătății vitezei maxime.

1.3. Inhibarea reacțiilor enzimaticе

În studiul inhibitorilor parametri cei mai comuni care descriu inhibiția, sunt: constanta de disociere a speciilor enzimaticе, fracția de inhibiție (potențialul relativ de inhibiție) și concentrația de inhibitori pentru a reduce activitatea enzimatică la jumătate;

Inhibitorii totali sunt clasificați conform Nomenclaturii Committee of International Union of Biochemistry (IUB), [15] în diferite tipuri după efectul pe care îl prezintă asupra parametrilor Michaelis-Menten: competitive; noncompetitive; mixte; necompetitive;

Diferențele între tipurile de inhibiție sunt reflectate în graficele Lineweaver-Burk.

Mecanismul general de inhibiție este descris de interacțiunea substratului S și a inhibitorului I cu enzima E, după cum se observă în figura 1.3.1.

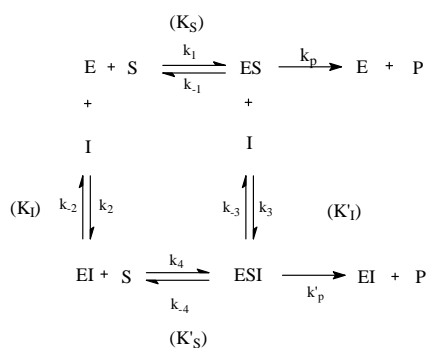


Figura. 1.3.1. Mecanismul general de inhibiție

Capitolul 2. Cinetica și mecanismul reacției de descompunere a H₂O₂ catalizate de peroxidază prin inhibare cu fenol

Acest capitol este consacrat studiului procesului de inhibare de către fenol a reacției de descompunere a H₂O₂ catalizate de peroxidază. S-au făcut măsurători atât cu peroxidază pură, cât și cu peroxidază extrasă din hrean.

2.1. Peroxidaza: prezentare generală

Cea mai demult cunoscută și bine studiată peroxidază este cea izolată din rădăcinile de hrean (*Armoracea rustica*) [24].

Din punct de vedere structural peroxidaza este considerată o enzimă hemică, fiind alcătuită dintr-o parte proteică numită apo-enzimă și o parte neproteică ce poartă denumirea de grupare prostetică

2.9. Principiul metodei amperometrice

Principiul metodei constă în monitorizarea consumului de O₂ rezultat din reacția de descompunere a H₂O₂, utilizând un senzor de oxigen de tip Clark.

Determinarea constantelor Michaelis-Menten K_M și a vitezelor maxime r_{\max} s-a făcut prin liniarizările Lineweaver-Burk.

Pentru determinarea tipului de inhibiție și calculul constantelor de disociere K_I (pentru disocierea complexului enzima – inhibitor) și K_I' (pentru disocierea complexului enzimă – substrat – inhibitor) a fost necesară trasarea linearizărilor $\frac{1}{r_0} = f([H_2O_2]_0)$ la concentrații diferite de fenol. Figura 2.9.2. prezintă acest grafic.

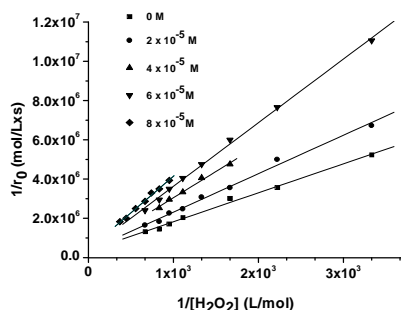


Figura 2.9.2. Linearizările Lineweaver-Burk pentru diverse concentrații de fenol

Se observă că odată cu creșterea concentrației de fenol viteza reacției scade, ceea ce confirmă inhibarea reacției de către fenol.

Din regresiile liniare obținute s-au putut calcula vitezele maxime și constantele Michaelis aparente în cazul diferitelor concentrații de inhibitori:

Tabel 2.9.2. Vitezele maxime și constantele Michaelis aparente în cazul diferitelor concentrații de inhibitori

$10^5 \times [\text{fenol}]_0$ (mol/L)	panta	$10^6 \times r_{\max(I)}$ (mol/Ls)	Ordonata la origine	$10^3 \times K_{M(I)}$ (mol/L)	R/n
0,0	1476	2,88	346166	4,25	0,1424
2,0	1958	2,80	356482	5,48	0,1245
4,0	2671	2,65	376526	7,07	0,1991
6,0	3241	2,59	386030	8,39	0,1248
8,0	3724	2,39	417863	8,90	0,1424

Valorile constantelor de disociere K_I și K_I' prezentate în tabelul 2.9.3, s-au determinat cu ajutorul ecuațiilor (1.3.15) și (1.3.16.), considerând $\beta = 0$, și utilizând valorile constantelor Michaelis aparente

Tabel 2.9.3. Valorile constantelor de inhibiție K_I , K_I'

$[\text{fenol}]_0 \times 10^5$ (mol/L)	$K_I \times 10^5$ (mol/L)	$K_I' \times 10^4$ (mol/L)	$\bar{K}_I \times 10^5$ (mol/L)	$\bar{K}_I' \times 10^4$ (mol/L)
2,0	6,11	6,82	5,43	5,55
4,0	5,00	4,94		
6,0	5,11	5,79		
8,0	5,50	4,65		

Din tabelul 2.9.3 se observă că nu există o valoare constantă pentru valorile constantelor de inhibiție K_I și K'_I . Aceasta înseamnă că coeficientul β nu este 0, deci inhibiția nu e totală. Valorile medii obținute din aceste calcule sunt: $K_I=5,4 \cdot 10^{-5}$ mol/L și $K'_I=5,55 \cdot 10^{-4}$ mol/L.

Valorile constantelor de inhibiție se pot determina și prin metoda grafică.

Cu ajutorul ecuațiilor (2.11) și (2.12) s-a calculat $K_I=(4,77 \pm 0,97) \cdot 10^{-5}$ mol/L și $K'_I=(3,35 \pm 0,97) \cdot 10^{-4}$ mol/L în bună concordanță cu valoarea medie obținută din calcule (tabelul 2.9.3).

Revenind la figura (2.9.1) prelungirile dreptelor obținute pentru diferite concentrații de fenol se întâlnesc într-un punct de coordonate $x = -3528$, $y = -777673$. Graficul se aseamănă cu cel din figura 1.4.1 sugerând un mecanism de inhibiție de tip mixt total. Valoarea raportului K_I/K'_I este $\sim 10^{-1}$ deci ținând cont de tabelele prezentate de J.L. Gelpi și colaboratori, mecanismul pentru inhibiție ar fi următorul:[49]

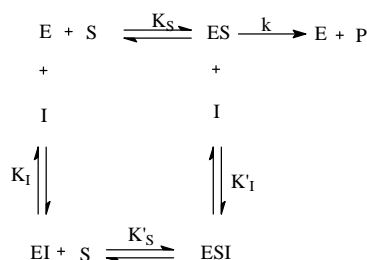


Figura. 2.9.4. Mecanismul propus pentru inhibirea peroxidazei de către fenol.

S-au făcut aceleași măsuratori și cu peroxidaza extrasă din hrean .

În figura 2.9.9 sunt prezentate curbele cinetice la aceeași concentrație de H_2O_2 cu peroxidază pură (curba albastră), și cu peroxidază extrasă din hrean (curba mov).

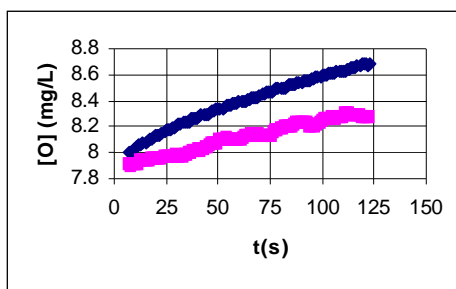


Figura 2.9.9 Curbele cinetice pentru descompunerea apei oxigenate fără inhibitor cu peroxidază pură (albastru) și peroxidază extrasă din hrean (mov).

Determinarea parametrilor cinetici K_M și r_{max} pentru măsurătorile cu peroxidază din hrean este mai dificilă deoarece măsurătorile nu sunt reproductibile și nu se cunoaște concentrația de enzima. Un alt inconvenient este acela că enzima nu este stabilă decât un timp relativ scurt, în care nu se pot face decât puține măsurători.

Capitolul 3. Descompunerea apei oxigenate catalizate de catalază utilizând medicamente ca și inhibitori

Catalaza joacă un rol important în descompunerea apei oxigenate rezultate din diverse reacții biochimice care au loc în organism. Această reacție este cunoscută sub denumirea de activitate “catalitică”:



și a fost subiectul a numeroase studii privitoare la elucidarea cineticii și mecanismului [55].

3.3. Medicamente utilizate ca și inhibitori ai reacției de descompunere a apei oxigenate

Unul din cele mai încântătoare domenii ale enzimologiei moderne este aplicarea inhibitorilor enzimatici, ca și medicamente în medicina umană și veterinară. De exemplu, aspirina, unul din cele mai populare medicamente folosite în lume, ca și antiinflamator acționează ca un inhibitor al enzimei prostaglandin sintetază [59].

3.5. Atenolol, Metoprolol. Prezentare generală

Atenololul ($C_{14}H_{22}N_2O_3$) este conform cu farmacopeea europeană, (\pm)-2-[4-[2-hidroxi-3-izopropilaminopropoxil]-fenil]-acetamidă [110]. Formula spațială este prezentată în figura 3.5.1.

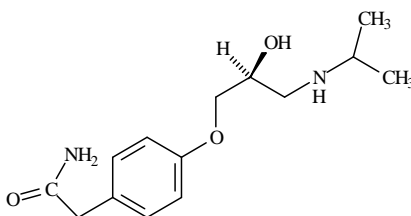


Figura. 3.5.1 Structura atenololului

Masa relativă este 266,3g/mol. Atenololul se prezintă sub formă de pudră albă sau cristale incolore foarte solubile în apă, solubile în etanol, puțin solubile în clorură de metilen și practic insolubilă în eter.

Metoprololul este prezent în formele farmaceutice sub formă de metoprolol tartrat, metoprolol succinat și metoprolol fumarat.

Metoprololul tartrat ($C_{34}H_{56}N_2O_{12}$) este conform cu farmacopeea europeană [110] (\pm)-1-izopropil-amino-3-*p*-(2-metoxietil)fenoxipropan-2-ol(2*R*, 3*R*)-tartrat cu numărul 56392-17-7. Formula spațială este prezentată în figura 3.5.2.

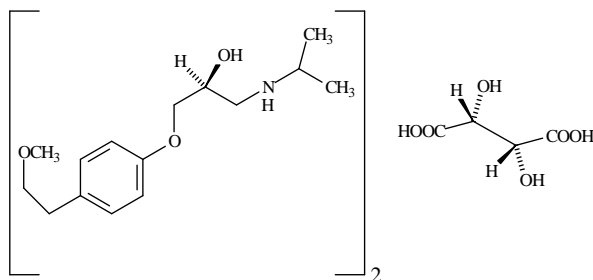


Fig. 3.5.2 Structura metoprolului tartrat

Masa relativă este 684,82 g/mol. Metoprololul tartrat se prezintă sub formă de pudră albă foarte solubilă în apă, solubilă în cloroform și diclormetan, puțin solubilă în acetonă și practic insolubilă în eter .

A) Metoda spectrofotometrică de determinare a atenololului

3.9. Rezultate și discuții

Reacția este urmărită spectrofotometric prin scăderea absorbăței la 240 nm. Atât atenololul cât și metoprololul nu au efecte interferente asupra reacției deoarece prezintă picuri de oxidare la 270 nm, respectiv 273nm [127].

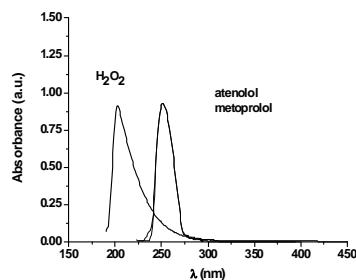


Figura 3.9.1. Spectrul electronic al H_2O_2 , atenololului și metoprololului

În figura 3.9.1. sunt prezentate spectrele electronice ale apei oxigenate și ale celor două medicamente β -blocante utilizate de noi ca și inhibitori (atenolol și metoprolol).

Descompunerea apei oxigenate de către catalază decurge după o lege cinetică de ordinul I

Valoarea vitezei inițiale, r_0 s-a calculat din panta dreptei obținute din reprezentarea absorbăței funcție de timp. Valorile medii ale vitezelor inițiale s-au calculat din trei măsurători independente respectând aceleași condiții experimentale.

În figura 3.9.2. sunt prezentate liniarizările Lineweaver-Burk și prelungirile acestora, la două concentrații diferite de atenolol

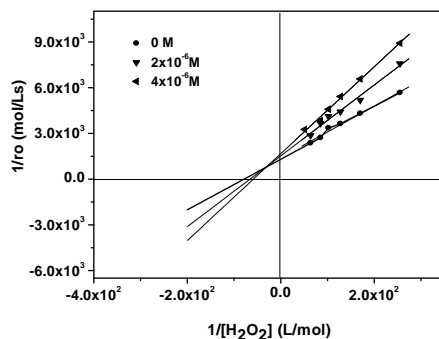


Figura 3.9.2. Liniarizările Lineweaver-Burk pentru diferite concentrații crescătoare de atenolol

În tabelul 3.9.1 sunt prezentate atât valorile parametrilor cinetici: viteză maximă r_{max} , respectiv constantă Michaelis K_M , cât și valorile pantei respectiv ordonatei la origine pentru toate concentrațiile de atenolol utilizate.

Tabel 3.9.1 Valorile parametrilor cinetici obținuți din Liniarizările Lineweaver-Burk pentru atenolol

$10^6 \times [\text{atenolol}]_0$ mol/L)	Panta	$10^4 \times r_{max(I)}$ (mol/Ls)	Ordonata la origine	$10^2 \times K_{M(I)}$ (mol/L)	R/n
0,0	29,795	9,70	1030,3	2,89	0,165
2,0	24,768	9,48	1054,2	2,34	0,1653
4,0	16,984	7,14	1399,5	1,21	0,1655
6,0	29,653	6,82	1464,3	2,02	0,1662
8,0	23,266	6,53	1531	1,51	0,1653

Din acest tabel se poate observa că odată cu creșterea concentrației de atenolol viteza de reacție scade, ceea ce confirmă inhibarea reacției de către atenolol.

Valorile vitezelor maxime, r_{max} , se obțin din panta liniarizărilor Lineweaver-Burk, iar constantele Michaelis, K_M , se obțin din ordonatele la origine ale acestor liniarizări. Pentru determinarea mecanismului de inhibiție și a constantelor de inhibiție se reprezintă panta liniarizărilor Lineweaver-Burk în funcție de concentrația de atenolol, și se obține $K_I = 5,35 \cdot 10^{-5}$ mol/L, (figura 3.9.3a), respectiv ordonata la origine a reprezentărilor Lineweaver-Burk funcție de concentrația de atenolol și se obține $K'_I = 2,58 \cdot 10^{-5}$ mol/L, (figura 3.9.3b)..

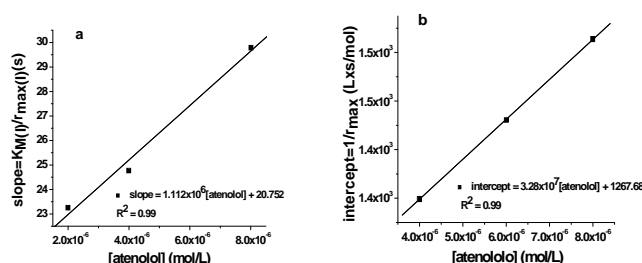


Figura 3.9.3 Panta liniarizării Lineweaver-Burk funcție de concentrația de atenolol(a), Ordonata la origine a liniarizării Lineweaver-Burk funcție de concentrația de atenolol (b)

B). Metoda amperometrică de determinare a atenololului

3.10. Rezultate și discuții

Reacția este studiată prin monitorizarea amperometrică a consumului de oxigen, rezultat din reacția de descompunere a apei oxigenate [132].

Determinarea parametrilor cinetici și a tipului de inhibiție se face, în același mod, respectând aceleași condiții experimentale ca și în cazul metodei spectrofotometrice, doar volumul de reacție este diferit.

Tabel 3.10.2. Vitezele maxime și constantele Michaelis aparente în cazul diferitelor concentrații de atenolol prin metoda amperometrică

$[\text{atenolol}]_0 \times 10^6$ (mol/l)	Panta	$r_{\text{max}} \times 10^4$ (mol/l/s)	Ordonata la origine	$K_{M(I)} \times 10^2$ (mol/l)	R/n
0,0	18,281	4,64	2155,1	3,94	0,124
2,0	7,986	2,98	3355,7	2,68	0,166
4,0	5,945	2,53	3952,5	2,35	0,166
6,0	6,382	1,94	5154,6	3,29	0,142
8,0	3,104	1,87	5347,7	1,66	0,166

Se observă că odată cu creșterea concentrației de atenolol, așa cum era de așteptat, viteza reacției scade, ceea ce confirmă inhibarea reacției de către acest medicament.

Aceste rezultate, arată faptul că valorile vitezei maxime obținute prin metoda spectrofotometrică (tabel 3.9.1) sunt duble față de valorile vitezei maxime obținute prin metoda amperometrică, (tabel 3.10.2), în aceleași condiții experimentale. Acest lucru poate fi explicat prin stoechiometria reacției de descompunere a apei oxigenate: din două molecule de apă oxigenată rezultă două molecule de apă și o moleculă de oxigen

De asemenea, în măsurătorile amperometrice se măsoară cantitatea de oxigen molecular eliberat, în timp ce prin metoda spectrofotometrică se măsoară consumul de apă oxigenată care se descompune [127].

Capitolul 4. Studiul oxidării atenololului utilizând un electrod de cărbune sticlos modificat cu nanoparticule de Aur

Utilizarea electrozilor modificați își găsește diverse aplicații într-o largă varietate de domenii de analiză: medicină, farmacie, protecția mediului, prelucrarea produselor alimentare, tehnică militară.

Nanoparticulele de aur (AuNPs) sunt des folosite pentru modificarea suprafeței diversilor electrozi, având multiple aplicații electrocatalitice printre care și construcția de biosenzori [137-139].

Recent mai multe studii s-au axat pe detecția atenololului datorită utilizării sale terapeutice în tratamentul diferitelor boli cardiace (angină pectorală, infarct miocardic, hipertensiune arterială, aritmie cardiacă [145,147].

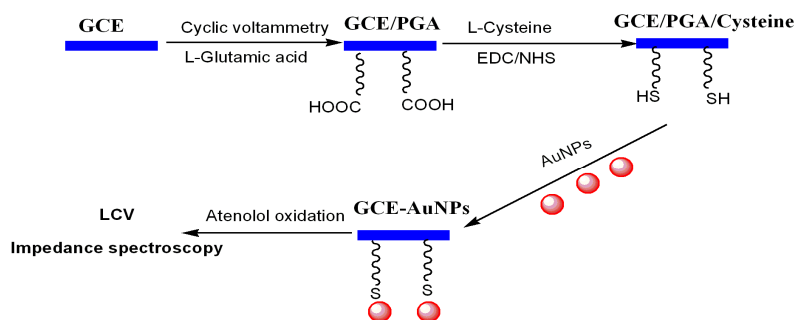
Contribuții originale

4.2. Prepararea soluției de nanoparticule de aur (AuNPs)

Soluția de nanoparticule de aur, AuNPs s-a obținut astfel: 50 mL de HAuCl_4 (0,01%) se aduc la fierbere sub agitare continuă, apoi se adaugă 1 mL de citrat de sodiu 1% și se lasă în continuare să fiarbă alte 15 minute. Apoi soluția se lasă să se răcească sub agitare continuă timp de 45 de minute. Soluția astfel obținută este de culoare roz. Din imaginile TEM diametrul nanoparticulelor de aur, este de aproximativ 40 nm.

4.3.Prepararea electrodului de cărbune sticlos (GCE) pentru depunerea de nanoparticule de aur (AuNPs) pe suprafața sa.

În schema 4.4 este reprezentată modificarea chimică a suprafeței electrodului de GCE cu nanoparticule de aur și modul în care are loc formarea diverselor legături la suprafața electrodului modificat.



Schema 4.4. Reprezentarea schematică a legării nanoparticulelor de aur pe suprafața electrodului de GCE-AuNPs

Se obțin astfel structuri GCE/PGA/cisteină/AuNPs, care vor fi simbolizate GCE-AuNPs.

4.4. Aparatura utilizată

Pentru vizualizarea nanoparticulelor de aur și pentru caracterizarea suprafeței nanostructurate a electrodului s-au utilizat diferite tehnici de microscopie TEM (Transmission Electron Microscopy), AFM (Atomic Force Microscopy).

Pentru a caracteriza efectele care au loc la suprafața electrodului s-au folosit metode electrochimice: voltametrie ciclică și: spectroscopie de impedanță

4.5. Rezultate și discuții

Modificarea electrodului de cărbune sticlos GCE cu amine au fost studiate atât în scop electrocatalitic, cât și pentru obținerea de senzori electrochimici. [150-155]

În figura 4.5.3 sunt prezentate imaginile TEM, ale nanoparticulelor de aur stabilizate. Se observă că nanoparticulele de aur sunt dispersate, datorită interacțiunii electrostatice de repulsie între moleculele de citrat și au dimensiuni cuprinse între 40 și 70 nm.

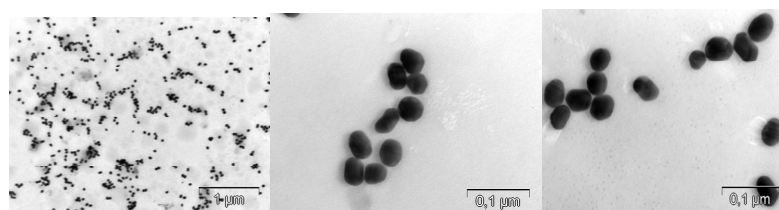


Figura 4.5.3 Imagini TEM ale nanoparticule de aur stabilizate cu citrat

În figura 4.5.3 sunt prezentate imagini AFM obținute în „contact mode”. Se observă că există o densitate mare de nanoparticule atașate pe suprafața electrodului, ceea ce îi conferă acesteia caracterul „nanostructurat”.

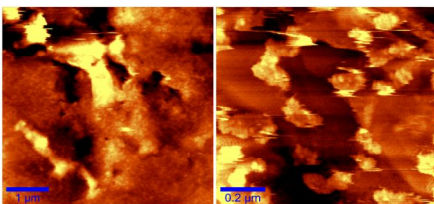


Figura.4.5.4. Imagini AFM (contact mode) ale electrodului de cărbune sticlos (GCE) acoperit cu nanoparticule de aur.

Imagini mult mai clare au fost obținute atunci când s-a folosit metoda „tapping mode”. Așa cum se vede din figura 4.5.4, suprafața electrodului a fost acoperită cu un monostrat de nanoparticule metalice. Nanoparticulele și-au păstrat

în general dimensiunea inițială (cea din soluția coloidală) și doar în puține cazuri au format aglomerate mai mari (dimensiunea > 100 nm).

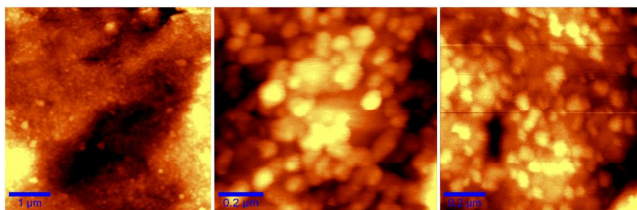


Figura 4.5.5. Imagini AFM (tapping mode) ale electrodului de cărbune sticlos (GCE) acoperit cu nanoparticule de aur

4.6. Caracterizarea electrochimică a electrodului nanostructurat, GCE-AuNPs

S-au înregistrat voltamogramele liniare în intervalul de potențial +0,3÷1V/ESC, atât în tampon Britton Robinson, cât și în soluții de diferite concentrații de atenolol (10^{-7} - 10^{-2} M), în tampon Britton Robinson.(figura 4.5.6 a)

Ulterior electrodul a fost transferat în soluțiile tampon care conțin concentrații diferite de atenolol (10^{-7} - 10^{-2} M).

La concentrații mai ridicate (10^{-6} - 10^{-3} M) de atenolol se observă apariția unui pic de oxidare la o valoare de potențial de aproximativ +0.65V/ESC. Acest potențial este semnificativ mai mic decât cel obținut cu un electrod de cărbune sticlos modificat cu fullerene, C₆₀-GCE (+1.04 V vs Ag/AgCl), sau cu un electrod pastă de carbon modificat cu nanoparticule de Aur (0,85 V/Ag/AgCl) [145-147].

Din voltamograma liniară prezentată în figura 4.5.6a se poate observa că există o creștere a intensității picului de oxidare a atenololului între concentrațiile 10^{-6} - 10^{-4} M. Acest lucru a permis trasarea curbei de calibrare prezentată în figura 4.5.6b.

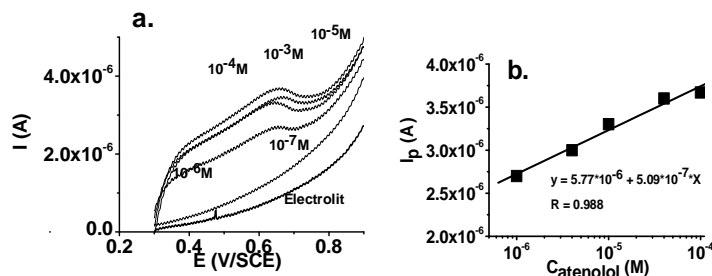


Figura 4.5.6. Voltamogramele liniare pentru diferite concentrații de atenolol (10^{-7} - 10^{-3} M) pe electrod GCE-AuNPs (a), Curba de calibrare pentru detecția atenololului cu electrod GCE-AuNPs(b). Condiții experimentale: viteza de baleiaj 50 mV/s , potențial de start: $+0,35\text{V/ESC}$, tampon BR, $\text{pH}=10$.

Este interesant să subliniem că la concentrații mai mari de atenolol 10^{-3} - 10^{-2} M, picul de oxidare are o scădere semnificativă. Acest lucru se poate explica prin adsorbția produsului de oxidare pe suprafața electrodului, ceea ce duce la micșorarea suprafeței active a electrodului. Practic are loc blocarea suprafeței electrodului.[157]

Tot din voltamograma liniară se poate vedea că la concentrații foarte mici de atenolol 10^{-7} nu apare nici un pic de oxidare la fel ca și în soluția de tampon Britton-Robinson.

Figura 4.5.12 prezintă voltametriile liniare în tampon Britton Robinson la variația de pH utilizând o concentrație de 6×10^{-4} M atenolol.(la o viteză de scanare 100mVs^{-1}).

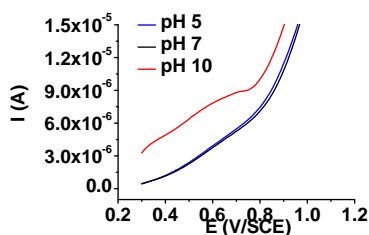


Figura 4.5.12. Voltamogramele liniare ale soluției de 6×10^{-4} M atenolol, pe electrod GCE/AuNPs la diferite valori de pH. Condiții experimentale: electrolit tampon BR, viteza de baleiaj 100mV/s , potențial de start $+0,35\text{V/ESC}$

Din figura 4.5.12, se observă apariția picului de oxidare, la un potențial de $+0,65 \text{ V/ESC}$, a grupării amino prezente în molecula de atenolol, numai în mediu bazic la $\text{pH}=10$.

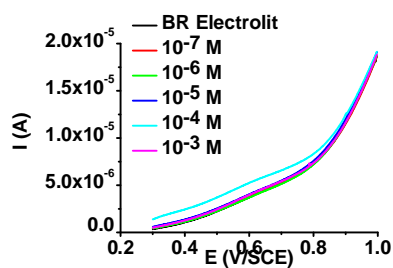
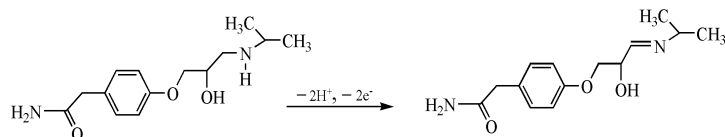


Figura 4.5.13. Voltamogramele liniare ale atenololului pe electrod GCE nemodificat. Condiții experimentale: electrolit tampon BR, pH=10, viteza de baleaj: 100mV/s, potențial de pornire +0,35V/SCE.

Din figura 4.5.13 se observă că la concentrații scăzute de atenolol (10^{-7} - 10^{-5} M) voltamogramele liniare se suprapun cu înregistrarea dată de soluția tampon, evidențiind faptul că compusul nu prezintă activitate redox.

La concentrație mai mare (10^{-4} M) curentul crește și apare un pic de oxidare foarte larg, în jur de +0,65V/ESC, acesta sugerând ca apare un transfer cinetic lent de echilibru.

Comparând voltamogramele din figura 4.5.13, cu cele obținute pe electrodul modificat din figura 4.5.6 se observă că prezența nanoparticulelor de aur induc electrooxidarea grupării amino a atenololului, la valoarea de potențial de +0,65V/ESC, conform mecanismului prezentat în schema 4.6.



Schema 4.6. Mecanismul propus pentru electro-oxidarea atenololului pe electrod de GCE-AuNPs [147].

Oxidarea are loc prin transferul a 2 electroni și 2 protoni. Transferul celor 2 protoni se face de la gruparea -NH și nu de la gruparea -OH [147].

În figura 4.5.14(a,b) sunt prezentate diagrama Nyquist și schema circuitului echivalent corespunzătoare spectrelor de impedanță cu electrod GCE-AuNPs, în prezență de atenolol.

Circuitul echivalent conține rezistența soluției (R_s) în serie cu două circuite RC paralel: R_bC_g (care caracterizează ansamblul nanostructurat), respectiv $R_{ct}C_{dl}$ (care cracterizează interfața) Spectrele de impedanță de la concentrațiile mari de atenolol (10^{-3} - 10^{-2} M) s-au suprapus cu spectrul de impedanță de la concentrația de 10^{-4} M atenolol și de aceea nu s-a reprezentat în figura 4.5.14 b

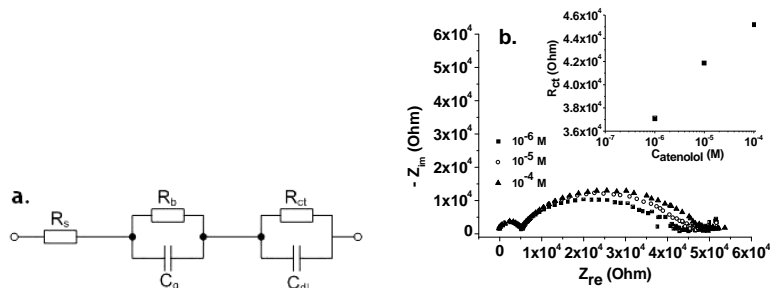


Figura 4.5.14. Circuitul electric echivalent obținut prin fitarea datelor experimentale de spectroscopie de impedanță(a), Diagrama Nyquist obținută la concentrații diferite de atenolol(10^{-6} - 10^{-4} M) în tampon Britton-Robinson și variația R_{ct} cu concentrația de atenolol.(b)

Din figura 4.5.14b se observă că toate spectrele obținute se caracterizează prin 2 semicercuri: unul mic care apare la frecvențe foarte mari și unul mare care apare la frecvențe medii-joase. Regiunea caracteristică difuziei Warburg (linia dreaptă sub un unghi de 45°) nu este bine definită în aceste spectre și de aceea nu a fost luată în calcul.

După fitarea datelor experimentale s-au obținut valorile rezistenței ($R_b = 5\text{ k}\Omega$) și a capacității ($C_g = 2,9 \times 10^{-9}$ F) care sunt constante indiferent de concentrațiile de atenolol. Rezistența de transfer de sarcină (R_{ct}) este semnificativ mai mare decât R_b , ea variază cu concentrația de atenolol și este cuprinsă între 37 și 45 k Ω .

Capitolul 5. Studiul oxidării carbamazepinei utilizând un electrod de aur modificat cu grafene și nanoparticule de aur

Acest capitol este consacrat studiului oxidării moleculei de carbamazepină cu ajutorul unui electrod de aur modificat cu nanoparticule de aur și grafene, luând în considerare proprietățile electrocatalitice ale grafenelor.

5.1. Caracteristici generale ale moleculei de carbamazepină

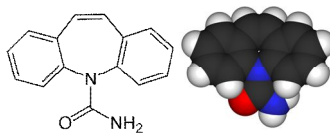
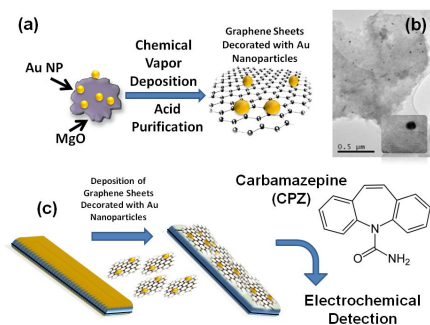


Figura 5.1.1. Structura moleculei de carbamazepină

Carbamazepina este considerată ca fiind unul din poluații emergenți din sol și din apele de suprafață, din preajma sanatoriilor, prin urmare este de dorit determinarea ei exactă prin metode rapide și sigure.

5.3. Prepararea electrodului de aur modificat cu grafene și nanoparticule de aur (Au-GR-AuNPs)

În schema 5.1 este prezentat modul și etapele în s-a realizat modificarea electrodului de aur cu grafene și nanoparticule de aur [180].



Schema 5.1 Reprezentarea schematică a modificării suprafeței electrodului de aur cu grafene și nanoparticule

5.5. Rezultate și discutii

Figura 5.5.1. prezintă grafene cu forme și dimensiuni variate.

Toate imaginile AFM arată faptul că stratul de grafene depus pe suprafața de aur nu are morfologia unui singur strat. Cu toate acestea măsurătorile electrochimice dovedesc faptul că proprietățile electrocatalitice se păstrează și în acest caz.

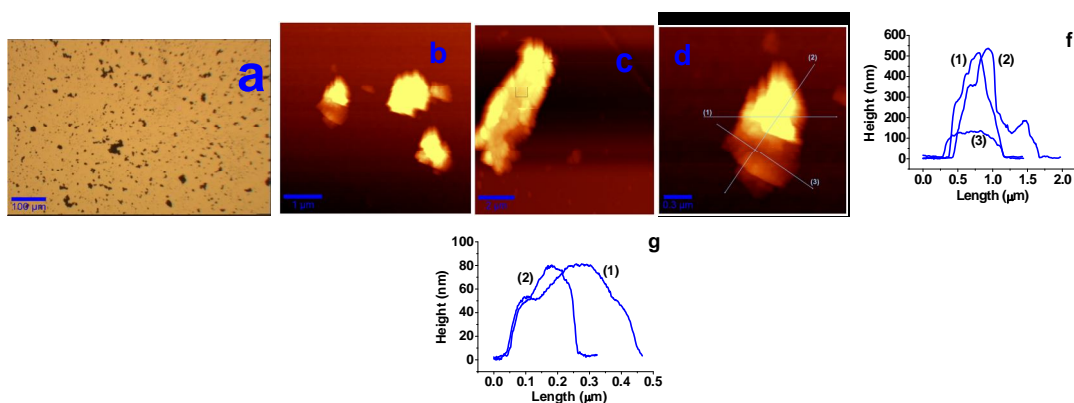


Figura 5.5.1. Imaginea optică a suprafeței de aur modificată cu grafene Au-GR (a); imagini reprezentative ale grafenelor pe suprafață de aur (tappingTM mode) (b-d); secțiunea transversală a grafenelor utilizate (f,g).

5.6. Caracterizarea electrochimică a electrodului modificat cu nanoparticule de aur și grafene.

Voltamograma ciclică a carbamazepinei (figura 5.6.1), permite identificarea unei perechi de picuri la potențialele de +1,49 V/ESC (oxidare, I_a) și +1,16V/ESC (reducere, I_c). Peste picul de oxidare I_a se suprapune un pic de oxidare I'_a de intensitate mult mai mică, poziționat la un potențial de aproximativ +1,6V/ESC.

Diferența de potențial $\Delta\varepsilon$ (calculată ca diferența dintre potențialele ε_a și ε_c are o valoare de 0,33V/ESC, ceea ce sugerează că molecula de carbamazepină suferă la electrod un proces redox cvasi-reversibil

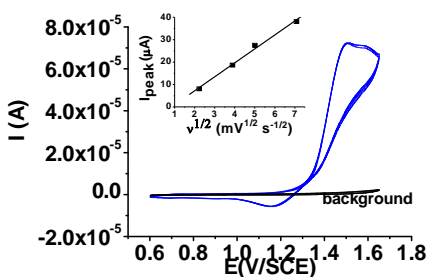


Figura 5.6.1. Voltamogramele ciclice succesive înregistrate cu un electrod de Au-GR-AuNPs în soluție de electrolit (linia neagră) și soluție de electrolit și carbamazepină 10^{-2} M (linia albastră), variația intensității curentului de pic cu viteza de scanare la $1/2$.

Condiții experimentale: electrolit acetonitril +0,05M TBAP, viteza de baleaj 25 mV/s, potențial de pornire +0,6V/ESC, număr de cicluri 3.

Din studiile de voltametrie ciclică, (figura 5.6.1), respectiv voltametrie liniară (figura 5.6.2), aceste picuri de oxidare se pot observa doar la concentrații ridicate de carbamazepină (10^{-2} M), la concentrații mai mici aceste picuri se suprapun generând un palier larg de oxidare.

Din voltamogramele cu baleaj liniar de potențial se observă că picul de oxidare crește odată cu creșterea concentrației de carbamazepină. La concentrații scăzute (10^{-6} M), dispare acest pic de oxidare, iar semnalul se suprapune cu semnalul electrolitului. O creștere clară a picului de oxidare a fost obținută la concentrații mai mari decât 5×10^{-6} M, și acest lucru a permis trasarea unei curbe de calibrare cuprinsă între 10^{-5} - 10^{-2} M carbamazepină. (Fig 5.6.2b)

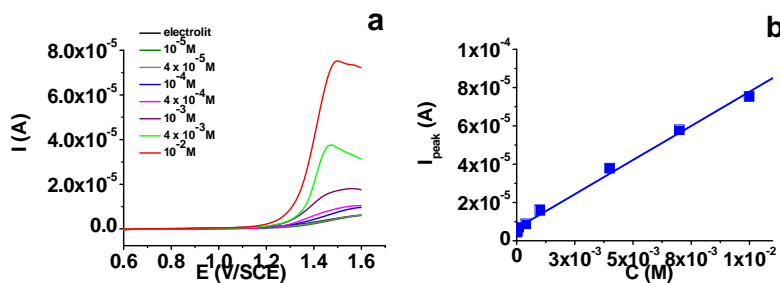


Figura 5.6.2 Voltamograma cu baleaj liniar de potențial a carbamazepinei pe electrod de Au-GR-AuNPs(a), Curba de calibrare pentru carbamazepină (b).
Condiții experimentale: electrolit acetonitril +0,05M TBAP, viteza de baleaj 25mV/s, potențial de start +0,6V/ESC.

Pentru a dovedi activitatea electrocatalitică a electrodului de aur modificat cu grafene și nanoparticule de aur, s-au trasat voltamogramele liniare, pentru un electrod de aur nemodificat și modificat cu grafene și nanoparticule de aur la aceleași concentrații de carbamazepină și în aceleași condiții experimentale

Rezultatele obținute cu cele două tipuri de electrozi sunt prezentate în figura 5.6.3

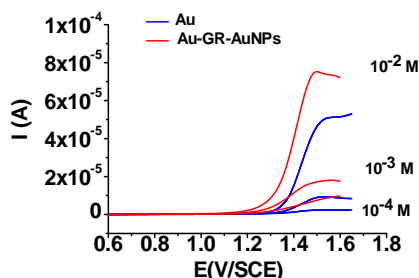


Figura 5.6.3. Voltamogramele cu baleaj liniar de potențial a diferitelor concentrații de carbamazepină obținute cu un electrod de aur (linia albastră), respectiv Au-GR-AuNPs, (linia roșie), Condiții experimentale: electrolit acetonitril+0,05M TBAP, viteza de baleaj 25mV/s, potențial de pornire +0,65V/ESC.

Din figura 5.6.3 se observă că în cazul electrodului de aur modificat, există o creștere semnificativă a intensității picului de oxidare, împreună cu o deplasare a valorii potențialului de oxidare la toate concentrațiile de carbamazepină cu aproximativ 90 mV spre valori mai negative.

Pentru a avea o caracterizare suplimentară a electrodului nanostructurat, s-au efectuat și spectrele de impedanță electrochimică la un potențial de +1,49V/ESC. In figura 5.6.4 s-au reprezentat circuitul echivalent, Diagrama Nyquist și rezistența de transfer de sarcină funcție de concentrația de carbamazepină.

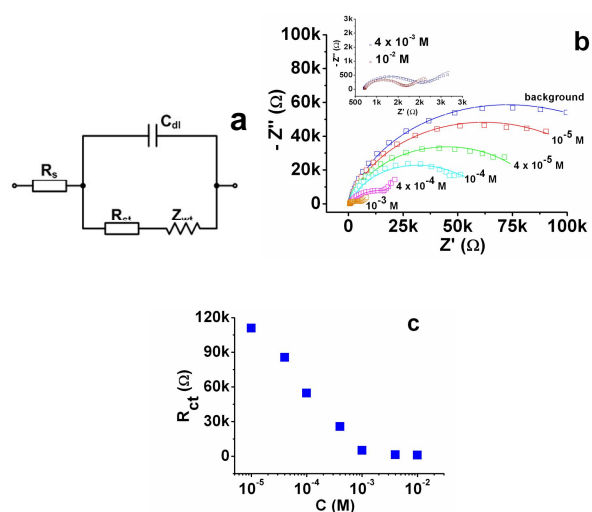


Figura 5.6.4. Circuitul electric echivalent obținut prin fitarea datelor experimentale de spectroscopie de impedanță(a), Diagrama Nyquist obținută la concentrații diferite de carbamazepină (10^{-5} - 10^{-2} M) în soluție de electrolit (acetonitril și TBAP)(b) variația R_{ct} cu concentrația de carbamazepină. (c) Condiții experimentale: electrolit acetonitril + 0,05M TBAP, potențial +1,49V/ESC

Din diagrama Nyquist se poate vedea că spectrele de impedanță de la concentrațiile mici de carbamazepină (10^{-6} M) se suprapun cu spectrul de impedanță al electrolitului.

Spectrele de impedanță sunt caracterizate de un singur semicerc în intervalul de frecvență ridicat și mediu, urmat de o linie dreaptă, sub un unghi de 45° în intervalul de frecvență joasă. (figura inserată 5.6.4b) Linia dreaptă care corespunde zonei de difuzie Warburg, apare numai la concentrații mai mari de 10^{-4} M.

Circuitul electric echivalent ales în concordanță cu datele experimentale este prezentat în figura 5.6.4 a. El conține rezistența soluției R_s , rezistența de transfer de sarcină R_{ct} , impedanța Warburg Z_w , și capacitatea stratului dublu electric C_{dl} .

Rezistența de transfer de sarcină R_{ct} este influențată de starea suprafeței electrodului nanostructurat. În acest caz se observă că R_{ct} are o variație liniară cu concentrația de carbamazepină în intervalul, 10^{-5} - 10^{-3} M, valoarea sa scăzând de la 127 la 5,8 K Ω și prezintă o tendință de saturație la aproximativ 2,5 K Ω (figura 5.6.4b). Această saturație poate fi atribuită acumulării moleculelor de carbamazepină între straturile de grafene, care în timp duce la o interacțiune slabă între grafene și suprafața electrodului de aur.

Concluzii generale

Enzimele sunt catalizatori deosebit de eficienți la concentrații foarte mici. Întocmai ca și catalizatorii clasici, enzimele oferă o cale de reacție nouă, cu o energie de activare mult mai mică, fără modificarea însă a echilibrului reacțiilor reversibile.

Pe baza mecanismului de cinetică enzimatică se pot stabili interacțiunile dintre enzimă și substrat.

S-a realizat studiul procesului de inhibiție a fenolului asupra reacției de descompunere a apei oxigenate, catalizate de peroxidază.

S-au făcut măsurători amperometrice atât cu peroxidază pură, cât și cu peroxidază extrasă din hrean. Pentru ambele tipuri de peroxidază s-au calculat valorile parametrilor cinetici și s-a stabilit mecanismul de inhibiție al fenolului.

S-a realizat studiul procesului de inhibiție a atenololului și metoprololului asupra reacției de descompunere a apei oxigenate, catalizate de catalază.

Pentru ambele medicamente β -blocante s-au determinat parametrii cinetici, atât din măsurători amperometrice cât și spectrofotometrice.

S-a stabilit mecanismul de inhibiție pentru aceste medicamente β -blocante utilizate ca și inhibitori pentru reacția de descompunere a apei oxigenate.

S-a realizat studiul oxidării atenololului cu ajutorul unui electrod de cărbune sticlos, GCE a cărui suprafață a fost modificată cu ansamble de aminoacizi și nanoparticule de aur (AuNPs), prin voltametrie liniară și spectroscopie de impedanță.

Suprafața electrodului modificată, permite determinarea unui pic de oxidare a atenololului la un potențial considerabil mai mic (0.65V/SCE), în comparație cu datele de literatură existente.

Din măsurătorile de spectroscopie de impedanță s-a realizat un circuit electric echivalent în bună concordanță cu datele experimentale și care permite determinarea parametrilor electrici cum sunt: Rezistența de transfer de sarcină (R_{ct}), și rezistența ansamblului nanostructurat (R_b).

S-a realizat studiul oxidării carbamazepinei cu ajutorul unui electrod de aur, a cărui suprafață a fost modificată cu grafene. prin voltametrie liniară și spectroscopie de impedanță.

Modelul ales de noi a evidențiat oxidarea carbamazepinei la un potențial de +1,49V/SCE, și a unui pic de reducere mai mic, la un potențial de +1,16V/ESC.

Din măsurătorile de spectroscopie de impedanță s-a realizat un circuit electric echivalent în bună concordanță cu datele experimentale și care permite determinarea parametrilor electrici.

Din măsurătorile electrochimice s-a constatat că în cazul electrodului de aur modificat, există o creștere semnificativă a intensității picului de oxidare, împreună cu o deplasare spre valori negative a potențialului de oxidare, la toate concentrațiile de carbamazepină.

Rezultatul cercetărilor personale contribuie la îmbogățirea cunoștințelor referitoare la metodele cinetice și electrochimice de analiză a unor medicamente bazate pe reacțiile catalizate enzimatic.

Bibliografie selectivă

1. I. Bâldea, Some Advanced Topics in Chemical Kinetics, **2000**, Cluj-Napoca University Press
2. L. Michaelis, M. L. Menten, "Die Kinetik der Invertinwirkung", *Biochem. Z.*, **1913**, 49, 333-369
15. Symbolism and Terminology in Enzyme Kinetic. Recommendation (1981) of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry Reprinted in Eur .J.Biochem., **1982**, 128, 281-291
24. K.R. Barber, M.J. Rodrigues-Maron, G.S. Shaw, *Journal Biochemical*, **1991**, 232,
49. R.J. Leatherbarrow, Use of nonlinear regression to analyze enzyme kinetic data: Application to situations of substrate contamination and background subtraction, *Anal. Biochem.*, **1990**, 184(2), 274-278.
55. B. Chance, An Intermediate Compound in the Catalase-hydrogen peroxide Reaction, *Acta Chem. Scand*, **1947**, 1 , 236-267
59. I. Claiken, S. Rose, R. Karlsson, *Anal Biochem.*, **1991**, 201, 197
110. ****Pharmacopee Europeene*, 3^e edition, **1997**
127. **F. Pogacean**, I. Baldea, L. Olenic, S. Pruneanu, Kinetic determination of drug concentration via enzyme-catalyzed decomposition of hydrogen peroxide, *Particles science and technology*, **2011**, in press, **Doi 10.1080/02726351.2010.521234**
132. **F. Pogacean**, I Baldea, F. Turbat, The inhibitory effect of the atenolol upon the enzyme catalyzed hydrogen peroxide decomposition, **2006**, *Studia Universitatis Babes-Bolyai Chemia LI*, 1
137. M.C. Daniel, D. Astruc, Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology, *Chem. Rev.*, **2004**, 104, 293
138. S. El-Deab, T. Ohsaka, An Extraordinary Electrocatalytic Reduction of Oxygen on Gold Nanoparticles-electrodeposited Gold Electrodes, *Electrochem. Commun.*, **2002**, 4, 288-292
139. R Willner, Baron, B. Willner, Growing metal nanoparticles by enzymes, *Adv. Mater.*, **2006**, 18, 1109-1120
145. R.N. Goyal, V.K. Gupta, M. Oyama, N. Bachheti, Differential pulse voltammetric determination of atenolol in pharmaceutical formulations and urine using nanogoldmodified indium tin oxide electrode, *Electrochem. Commun.*, **2006**, 8, 65-70

146. N.Goyal, S.P. Singh, Voltammetric determination of atenolol at C60-modified glassy carbon electrodes, *Talanta*, **2006**, 69, 932-937.
147. M. Behpour, E. Honarmand, S.M. Ghoreishi, Nanogold-modified Carbon Paste Electrode for the Determination of Atenolol in Pharmaceutical Formulations and Urine by Voltammetric Methods, *Bull.KoreanChem.Soc.* **2010**, 31, 4, 845-849
150. A.M.Yu, H.Y.Chen, Electrocatalytic oxidation of hydrazine at the poly(glutamic acid) chemically modified electrode and its amperometric determination, *Anal.Lett.*, **1997**, 30, 599-607
151. L.Zhang, Y.Sun, X.Lin, Separation of anodic peaks of ascorbic acid and dopamine at an α -alanine covalently modified glassy carbon electrode, *Analyst*, **2001**, 126, 1760-1763
152. D.P.Santos, M.F.Bergamini, A.G.Fogg, M.V.B.Zanoni, Application of a glassy carbon electrode modified with poly(glutamic acid) in caffeic acid determination, *Microchim.Acta*, **2005**, 151, 1-2, 127-134
153. G.Hu, Y.Liu, J.Zhao, S.Cui, Z.Yang, Y. Zhang, Selective response of dopamine in the presence of ascorbic acid on L-cysteine self-assembled gold electrode, *Bioelectrochemistry*, **2006**, 69, 254-257
154. D.P.Santos, M.V.B.Zanoni, M.F.Bergamini, A-M. Chiorcea-Paquim, V.C. Diculescu, A-M. Oliveira Brett, Poly(glutamic acid) nanofibre modified glassy carbon electrode: Characterization by atomic force microscopy, voltammetry and electrochemical impedance, *Electrochim. Acta*, **2008**, 53, 3991-4000
155. R.S. Deinhammer, M.Ho, J.W. Andereg, M.D.Porter, Electrochemical oxidation of amine-containing compounds: a route to the surface modification of glassy carbon electrodes, *Langmuir*, **1994**, 10, 1306-1313
157. R.N. Hegde, B.E. Kumara Swamy, B.S. Sherigara, S.T. Nandibewoor, Electro-oxidation of Atenolol at a Glassy Carbon Electrode, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2008**, 3, 302-314
180. Du Meng, Tao Yang, Kui Jiao, *J. Mater. Chem.*, Immobilization-free direct electrochemical detection for DNA specific sequences based on electrochemically converted gold nanoparticles/graphene composite film, **2010**, 20, 9253-9260

Listă de lucrări publicate:

1. C. Muresanu, L.Copolovici, **F. Pogacean**, A kinetic method for para-nitrophenol determination based on its inhibitory effect on the catalytic reaction of catalase, *Central European Journal of Chemistry*, **2005**, 3(4), 592-604.
2. A. Orza, L. Olenic, S. Pruneanu, **F. Pogacean**, A.S. Biris, Morphological and electrical characteristics of amino acid-AuNP nanostructured two-dimensional ensembles, *Chem. Phys.*, **2010**, 373, 295
3. D. Vlascici, S.Pruneanu, L. Olenic, . **Pogacean** et all, Manganese(III) Porphyrin-based Potentiometric Sensors for Diclofenac Assay in Pharmaceutical Preparation, **2010**, *Sensors*, 10(10), 8850-8864
4. S. Pruneanu, **F. Pogacean**, C. Grosan, E.M.Pica, L.V. Bolundut, A.S. Biris, Electrochemical investigation of atenolol oxidation and detection by using a multicomponent nanostructures assembly of amino acids and gold nanoparticles, *Chem. Phys. Lett.*, **2011**, 504, 1-3, 56-61
5. **F. Pogacean**, I.Baldea, L.Olenic, S. Pruneanu, Kinetic determination of drug concentration via enzyme-catalyzed decomposition of hydrogen peroxide, *Particulates science and technology*, **2011**, in press, **Doi 10.1080/02726351.2010.521234**.
6. **F. Pogacean**, I Baldea, F. Turbat, The inhibitory effect of the atenolol upon the enzyme catalyzed hydrogen peroxide decomposition, **2006**, *Studia Universitatis Babes-Bolyai Chimia LI*, 1
7. **F. Pogacean**, I. Baldea, F. Turbat, Inhibitory effect of metoprolol upon catalase-H₂O₂ decomposition , used as potential kinetic method to determine the drug concentration, **2007**, *Studia Universitatis Babes-Bolyai*, LI, 2, 125-134

Brevete de invenție

1. S. Pruneanu, **F Pogacean**, L. Olenic, Procedeu de realizare a unui electrod de cărbune sticlos modificat cu un ansamblu nanostructurat pe bază de nanoparticule de aur și L-cisteină(cerere de brevet-Nr. OSIM A/00635 / 04.07.2011)

