



(12)

## BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2011 00635**

(22) Data de depozit: **04/07/2011**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/01/2017** BOPI nr. 1/2017

(41) Data publicării cererii:  
**28/02/2014** BOPI nr. 2/2014

(73) Titular:  
• **INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU  
TEHNOLOGII IZOTOPICE ȘI  
MOLECULARE, STR.DONATH NR.65-103,  
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

(72) Inventatori:  
• **PRUNEANU STELA MARIA, STR.HOREA  
NR.37-39, AP.43, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**

• **POGACEAN FLORINA,  
ALEEA CALISTRAT HOGAS NR.4, AP.1,  
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**  
• **OLENIC LILIANA, STR.FĂNTÂNELE NR.7,  
BL.A, SC.2, AP.42, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**  
• **ALMASAN VALER, ALEEA MUSCEL  
NR.12, AP.7, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:  
**US 2010/0219072 A1; CN 101458223 (A)**

(54) **PROCEDEU DE REALIZARE A UNUI ELECTROD DE  
CĂRBUNE STICLOS MODIFICAT CU UN ANSAMBLU  
NANOSTRUCTURAT PE BAZĂ DE NANOPARTICULE  
DE AUR ȘI L-CISTEINĂ**



# RO 129261 B1

1           Invenția se referă la un procedeu de realizare a unui electrod modificat cu un ansam-  
blu nanostructurat de nanoparticule de aur și L-cisteină, utilizat în scopul investigării electro-  
3 chimice a atenololului și a determinării acestuia.

Atenololul este o substanță care aparține clasei  $\beta$ -blocantelor, și este un medicament  
5 foarte toxic. Acest medicament se folosește în scop terapeutic, în tratamentul anginei  
pectorale, al infarctului miocardic, precum și în aritmiile hipertensive și cardiace. De obicei,  
7 se prescriu doze foarte mici și pentru perioade scurte de timp. Din cauza toxicității sale, în  
literatura de specialitate există foarte multe studii privind determinarea atenololului.

9           Studiul oxidării atenololului prin diferite tehnici electrochimice prezintă informații  
importante despre procesul redox al acestei molecule. În studiile recente asupra detecției  
11 atenololului s-au folosit electrozi de tip ITO (oxid de staniu și indiu) modificați cu nano-  
particule de aur (**R. N. Goyal, V. K. Gupta, M. Oyama, N. Bachheti, Electrochem.**  
13 **Commun. 8 (2006) 65**), electrozi de cărbune sticloși nemodificați (**R. N. Hegde, B. E.**  
**Kumara Swamy, B. S. Sherigara, S. T. Nandibewoor, Int. J. Electrochem. Sci. 2 (2008)**  
15 **302**) sau modificați cu  $C_{60}$  (fulerene) (**R. N. Goyal, S. P. Singh, Talanta 69 (2006) 932**),  
respectiv, cu nanoparticule de aur (**S. Pruneanu, F. Pogacean, C. Grosan, E. M. Pica, L.**  
17 **C. Bolundut, A. S. Biris, Chemical Physics Letters 504 (2011), 56-61**), precum și electrozi  
din pastă de cărbune modificați cu nanoparticule de aur (**M. Behpour, E. Honarmand, S.**  
19 **M. Ghoreishi, Bull. Korean Chem. Soc. 31(4) (2010) 845**).

Electrozii pe bază de cărbune, folosiți în detecția atenololului și prezentați în  
21 literatură, au anumite dezavantaje, precum: electrozii de pastă de cărbune modificați cu  
nanoparticule de aur (**M. Behpour, E. Honarmand, S. M. Ghoreishi, Bull. Korean Chem.**  
23 **Soc. 31(4) (2010) 845**) au limita de detecție scăzută ( $7,3 \times 10^{-8}$  M), dar în acest caz nano-  
particulele de aur nu sunt legate covalent de substratul de cărbune și, ca urmare, acestea  
25 pot să iasă din pasta de cărbune, micșorându-se astfel efectul electrocatalitic: electrozii din  
cărbune sticlos nemodificați (**R. N. Hegde, B. E. Kumara Swamy, B. S. Sherigara, S. T.**  
27 **Nandibewoor, Int. J. Electrochem. Sci. 2 (2008) 302**), folosiți la detecția atenololului, sunt  
utilizați în special în studiul proceselor de electrod.

29           În **US 2010/0219072 A1** sunt descrise un electrod enzimă și un procedeu de obținere  
a acestuia, electrodul fiind un electrod care se obține prin formarea unei suprafețe de aur pe  
31 un substrat de carbon, modificarea suprafeței de aur cu L-cisteină, modificarea suprafeței  
de aur cu N,N'-diclohexilcarbodiimidă și legarea chimică a suprafeței de aur modificată, cu  
33 o glucoz oxidază.

**CN 101710095 (A)** se referă la o metodă de determinare a dopaminei prin utilizarea  
35 efectului de recunoaștere a încărcării, care cuprinde etapele de lustruire a unui electrod de  
aur cu pulbere de alumină, înmuierea și spălarea cu acid azotic, etanol anhidru și apă pură,  
37 realizarea unei spălări ultrasonice, și imersarea electrodului astfel obținut într-o soluție de  
acid clorhidric 0,1 M, care conține 0,01 mol/l cisteină, timp de 6 h, pentru a se obține un  
39 electrod modificat cu L-cisteină, care, ulterior, este imersat într-o soluție de acid dietiltri-  
aminopentaacetic care conține 1-etil-(3-dimetilaminopropil)carbodiimidă clorhidrat și N-hidroxi-  
41 succinimidă, timp de 5 h, pentru a se obține un electrod modificat acid dietiltri-  
aminopentaacetic/cisteină/aur. Electrodul este utilizat pentru detectarea conținutului de dopamină  
43 în serul uman.

Dezavantajele procedeelor și electrozilor cunoscuți din stadiul tehnicii constau în  
45 aceea că au limite de detecție scăzute, și necesită materiale și reactivi scumpi.

# RO 129261 B1

Electrodul de cărbune sticlos, modificat cu nanoparticule de aur, realizat conform invenției, are următoarele avantaje: limita de determinare scăzută ( $3,9 \times 10^{-7}$ M); tehnologie de realizare simplă; consum de reactivi și materiale scăzut; parametri funcționali comparabili cu cei din literatură.	1 3
Problema tehnică pe care o rezolvă invenția este realizarea unui astfel de senzor printr-un procedeu simplu, la prețuri de cost mai mici.	5
Procedeul conform invenției înlătură dezavantajele menționate prin aceea că, într-o primă etapă, are loc șlefuirea electrodului de cărbune sticlos cu alumină, și sonare cu etanol și apă deionizată, electropolimerizarea acidului glutamic pe suprafața electrodului, activarea grupărilor carboxil ale acidului glutamic prin imersare într-o soluție 10 mM de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimidă, timp de 20 min, imersarea electrodului într-o soluție 10 mM N-hidroxisuccinimidă, timp de 20 min, urmată de legarea moleculelor de L-cisteină pe suprafața acidului poliglutamic, prin scufundare într-o soluție de cisteină 0,1 M, și legarea nanoparticulelor de aur obținute prin reducerea acidului cloroauric cu citrat de sodiu, prin intermediul grupărilor tiol de la suprafața electrodului.	7 9 11 13 15
Se dă în continuare un exemplu de realizare a invenției, în legătură și cu fig. 1 și 2, ce reprezintă schema de realizare a electrodului modificat, imaginea TEM a nanoparticulelor de aur, imaginea AFM a suprafeței modificate a electrodului de cărbune sticlos, înregistrarea maximului de oxidare a atenololului, și funcția de calibrare a electrodului modificat.	17 19
Procedeul de realizare a electrodului modificat este următorul: într-o primă etapă are loc șlefuirea electrodului de cărbune sticlos cu alumină și apoi are loc o etapă de ultrasonare cu etanol și apă deionizată. Se electroplimerizează apoi, prin voltametrie ciclică, acidul glutamic pe suprafața electrodului, obținându-se un strat compact de acid poliglutamic (15 cicluri în soluție de 0,02 M glutamic; electrolitul suport a fost 0,2 M tampon fosfat, $pH = 7$ ). Grupările carboxil ale acidului poliglutamic se activează prin imersare într-o soluție de 10 mM 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimidă (EDC), timp de 20 min. Apoi electrodul se imersează într-o soluție de 10 mM N-hidroxisuccinimidă (NHS), timp de 20 min. La suprafața acidului poliglutamic se leagă moleculele de L-cisteină (din soluție de 0,1 M cisteină), folosind reacția (EDC/NHS) (Y. Zhang, K. Zhang, H. Ma, <i>Am. J. Biomed. Sci.</i> <b>1</b> (2) (2009) 115). Grupările -SH de la suprafața electrodului se leagă cu nanoparticule de aur având diametrul de aproximativ 40 nm, care, în prealabil, au fost obținute prin reducerea $HAuCl_4$ cu citrat de sodiu. În ultimii ani se folosesc tot mai intens nanoparticulele de aur la obținerea diferitelor tipuri de senzori (M. S. El-Deab, T. Ohsaka, <i>Electrochem. Commun.</i> <b>4</b> (2002) 288, A. Orza, L. Olenic, S. Pruneanu, F. Pogacean, A.S. Biris, <i>Chem. Phys.</i> <b>373</b> (3) (2010)295, Y. Zhang, K. Zhang, H. Ma, <i>Am. J. Biomed. Sci.</i> <b>1</b> (2) (2009) 115, J. Zhang, M. Oyama, <i>Anal. Chim. Acta</i> <b>540</b> (2005) 299, X. Dai, O. Nekrassova, M. E. Hyde, R. G. Compton, <i>Anal. Chem.</i> <b>76</b> (2004) 5924, B. Li, Y. Wang, H. Wei, S. Dong, <i>Biosens. Bioelectron.</i> <b>23</b> (2008) 965).	21 23 25 27 29 31 33 35 37
Electrodul astfel obținut prezintă următorii parametri funcționali: domeniul de măsură (M) $10^{-6}$ ... $10^{-3}$ , limita de detecție de $3,9 \times 10^{-7}$ M, o bună sensibilitate (panta) $5,09 \times 10^{-4}$ (mA/decadă) și reproductibilitate (fig. 2).	39 41

# RO 129261 B1

1

## Revendicare

3

Procedeu de realizare a unui electrod de cărbune sticlos, selectiv la atenolol, modificat cu un ansamblu nanostructurat, pe bază de nanoparticule de aur și L-cisteină, **caracterizat prin aceea că**, într-o primă etapă, are loc șlefuirea electrodului de cărbune sticlos cu alumină, și sonare cu etanol și apă deionizată, electropolimerizarea acidului glutamic pe suprafața electrodului, activarea grupărilor carboxil ale acidului glutamic prin imersare într-o soluție 10 mM de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimidă, timp de 20 min, imersarea electrodului într-o soluție 10 mM N-hidroxisuccinimidă, timp de 20 min, urmată de legarea moleculelor de L-cisteină pe suprafața acidului poliglutamic, prin scufundare într-o soluție de cisteină 0,1 M, și legarea nanoparticulelor de aur obținute prin reducerea acidului cloroauric cu citrat de sodiu, prin intermediul grupărilor tiol de la suprafața electrodului.

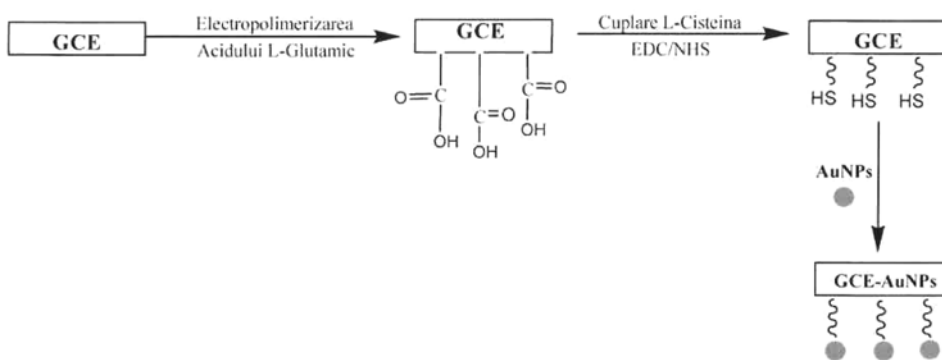
5

7

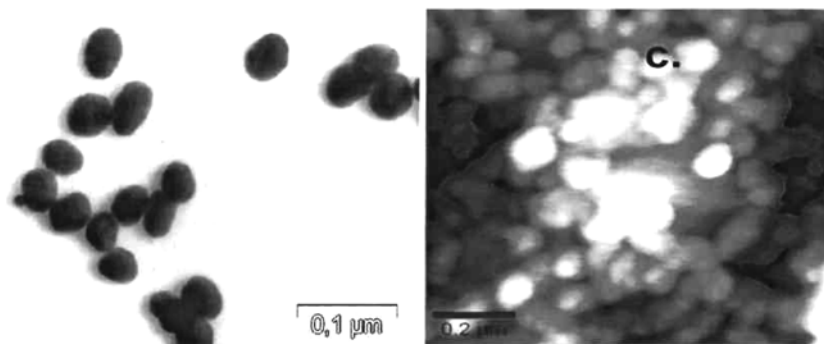
9

11

(51) Int.Cl.  
G01N 27/327<sup>(2006.01)</sup>;  
C12Q 1/00<sup>(2006.01)</sup>

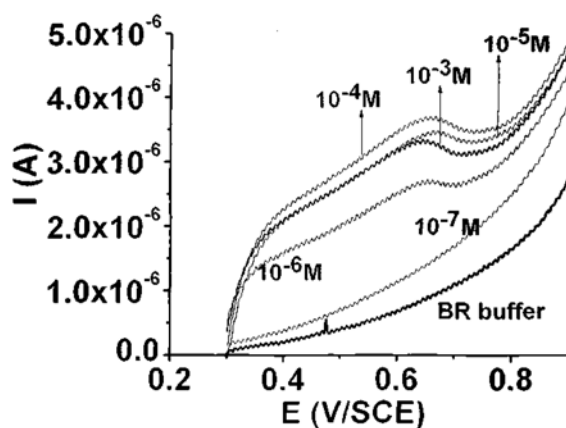


a

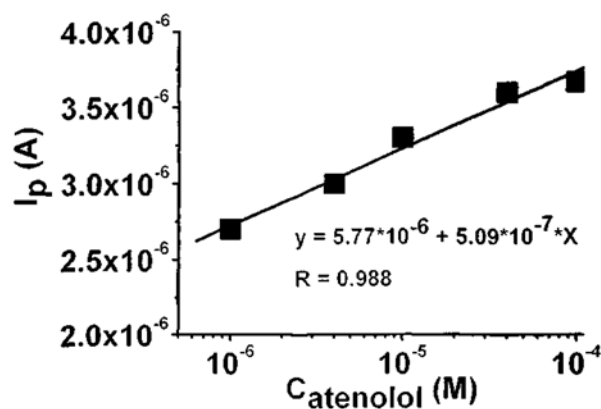


b

Fig. 1



a



b

Fig. 2



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM  
 Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci  
 sub comanda nr. 14/2017