

Universidad de La Habana. Facultad de Farmacia y Alimentos

## HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE CARBOXIMETILQUITINA Y CARBOXIMETILQUITOSANA

Sol A. Fernández Monagas<sup>1</sup>

### RESUMEN

---

Se estudió la actividad de la lisozima sobre la carboximetilquitina y la carboximetilquitosana mediante el empleo de la viscosimetría y se encontró que ambas son hidrolizadas en condiciones fisiológicas.

*Descriptor DeCS:* QUITINA/análogos & derivados; HIDROLISIS; MURAMIDASA/fisiología.

---

Los derivados de la quitina solubles en agua resultan de gran interés por sus diversas aplicaciones biomédicas y farmacéuticas. Entre estos derivados se encuentran la carboximetilquitina y la carboximetilquitosana.<sup>1-5</sup>

Con estas sustancias hemos encontrado buenos resultados en el tratamiento de lesiones erosivas de la mucosa bucal y de algunas afecciones dermatológicas.

Algunos autores han estudiado la hidrólisis enzimática de derivados solubles de quitinas que presentan características quimicofísicas diferentes a las encontradas para la quitina empleada como material de partida en este trabajo (Nordtveit RJ, Varum KM, Smidrod O. Degradación of O-carboxymethyl chitin with lysosyme. Fukamizo T. Interaction of partially acetylated

chitotri saccharides with hen egg white lysozyme. Kurita K, Ishii S, Nishimura S, Yoshino H, Hashimoto S. Lysozyme susceptibility and some other characteristic properties of 2-mercapto and 6-mercapto chitins. Extended Summaries of International Symposium on Chitin Enzymology, Senigallia, 1993).

Para demostrar que los 2 derivados carboximetilados de quitina, obtenidos en nuestros laboratorios, son hidrolizados por la lisozima presente en los tejidos y fluidos biológicos, hemos seguido la actividad de dicha enzima mediante el empleo de la viscosimetría, que resulta particularmente versátil y rápida para el análisis de soluciones de macromoléculas.<sup>6</sup>

---

<sup>1</sup> Licenciada en Química. Profesora Auxiliar.

## MÉTODOS

La carboximetilquitina y la carboximetilquitosana fueron obtenidas por reacción de quitina alcalina con ácido monocloroacético en diferentes condiciones de temperatura y tiempo de reacción.

Ambos compuestos fueron identificados mediante espectroscopia IR, con un espectrofotómetro Nicolet 205 FT-IR.

Para la hidrólisis enzimática fue empleada lisozima de albúmina de huevo (Calbiochem). Una alícuota de solución al 5 % w/w de la muestra fue introducida en la copa del viscosímetro, a la cual se le añadió 1 mL de solución de lisozima 5 mg/mL. El equipo utilizado fue Haake Rotovisco RV-20 controlado mediante computadora con programa Rotation Haake. La temperatura fue de  $37 \pm 0,01$  °C. La hidrólisis de la carboximetilquitina se realizó a pH 5,5 y 7 y la correspondiente

a la carboximetilquitosana a pH 7. Para determinar el orden de la reacción y la velocidad específica, se utilizó el método de las propiedades físicas o método de las lambdas, para lo cual se tomó como propiedad física la viscosidad de la solución y se construyó el gráfico de log (viscosidad en el tiempo t-viscosidad final) vs. tiempo.<sup>7</sup>

## RESULTADOS

Las figuras 1 y 2 muestran los espectros IR de los 2 derivados obtenidos. Nótese las bandas a  $1600$  y  $1400$   $\text{cm}^{-1}$ , correspondientes al grupo  $-\text{COO}-$ . En el espectro de la figura 1 aparecen las bandas características para las amidas secundarias a  $1555$   $\text{cm}^{-1}$  (banda II, correspondiente al doblaje N-H) y  $1655$   $\text{cm}^{-1}$ , correspondiente al grupo carbonilo, mientras que en el espectro IR (figura 2) se observa la ausencia de la banda II de amida secundaria y la disminución de la intensidad de la banda a  $1555$   $\text{cm}^{-1}$ .

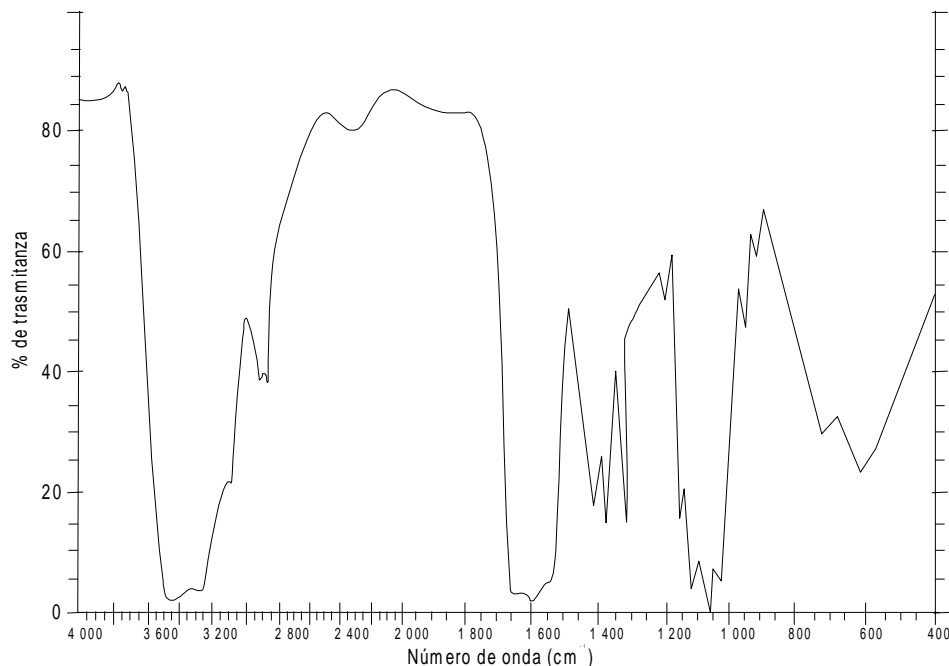


FIG 1. Espectro IR de carboximetilquitina.

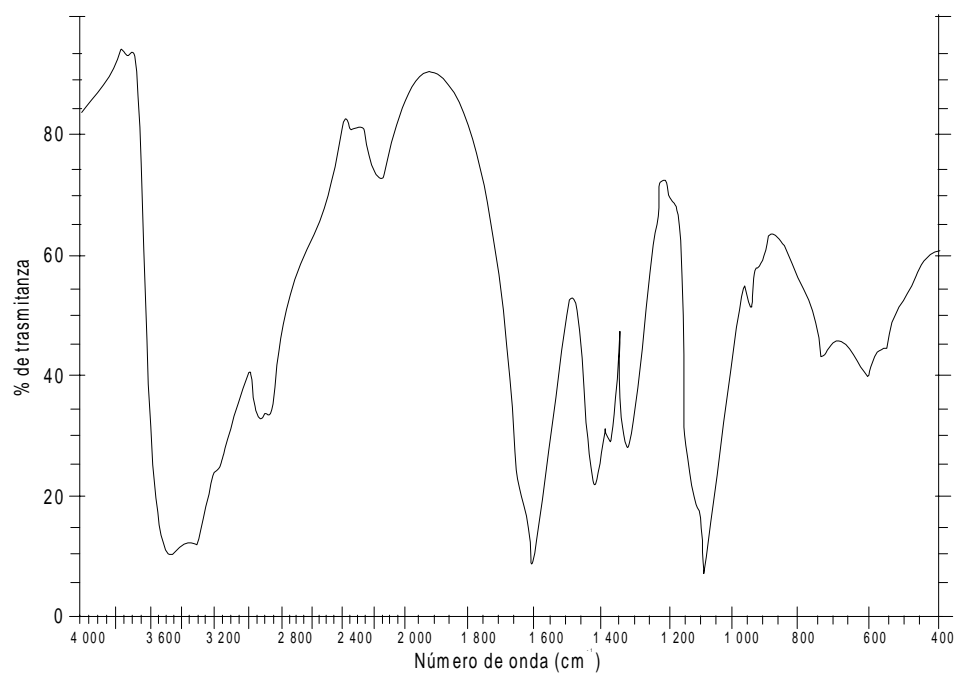


FIG 2. Espectro IR de carboximetilquitosana.

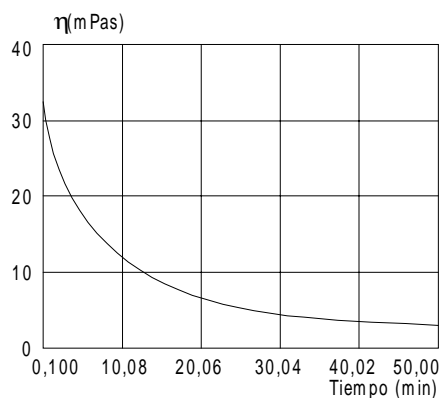


FIG 3. Hidrólisis enzimática de carboximetilquitina.

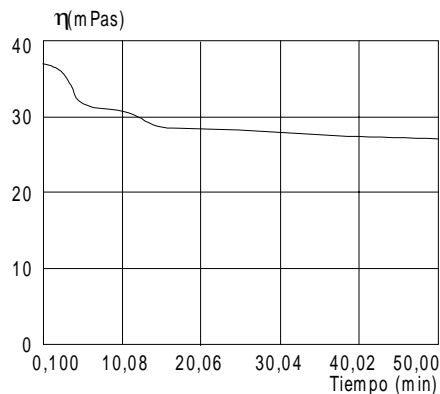


FIG 4. Hidrólisis enzimática de carboximetilquitosana.

En las figuras 3 y 4 se presentan el comportamiento de la viscosidad en el tiempo para las soluciones tratadas con lisozima.

Al utilizar el método de las lambdas, se pudo comprobar que la degradación

enzimática responde a una cinética de primer orden (figura 5), con valores de velocidad específica aparente, a pH 7, de 0,034 1/min para la carboximetilquitina y de 0,0025 1/min para la carboximetilquitosana.

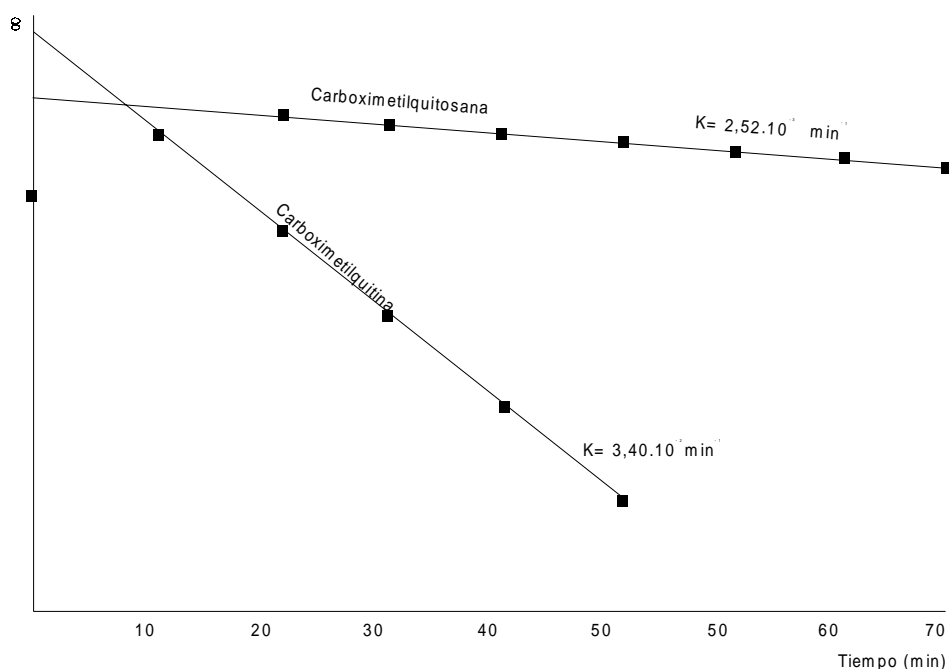


FIG 5. Comportamiento cinético de carboximetilquitina y carboximetilquitosana.

## DISCUSIÓN

Al analizar los espectros IR obtenidos, podemos decir que éstos corresponden a una carboximetilquitina (figura 1) y a una carboximetilquitosana (figura 2).

La disminución de la viscosidad en las soluciones tratadas con lisozima muestra que ambos compuestos son degradados por la enzima a 37 °C y pH 7, con una degradación mucho más rápida para la carboximetilquitina.

La variación del pH no afecta de

modo significativo la velocidad de degradación de la carboximetilquitosana ( $k = 0,027 \text{ 1/min}$ ).

En conclusión, la lisozima hidroliza a la carboximetilquitina y la carboximetilquitosana en condiciones similares a las fisiológicas.

La carboximetilquitosana es degradada mucho más lentamente que la carboximetilquitina, lo cual puede explicar la mayor efectividad terapéutica de la primera en el tratamiento de algunas lesiones y afecciones dermatológicas.

## SUMMARY

The activity of lysozyme on carboxymethylchitin and carboxymethyl-chitosan was studied by viscosimetry. It was found that both are hydrolyzed under physiological conditions.

*Subject headings:* CHITIN/analogues & derivatives; HIDROLYSIS; MURAMIDASA/physiology.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nishimura S, Nishi N, Tokura S. Bioactive chitin derivatives. Activation of mouse-peritoneal macrophages by O-(carboxymethyl) chitins. *Carbohydr Res* 1986;146:251-8.
2. Muzzarelli RAA, Tanfani F, Muzzarelli MG. La quitina e i suoi derivati: recenti ricerche applicate. *Chim Industr* 1982;64(1):18-25.
3. Gross P, Konrad E, Mager H. Investigations on chitosan as a natural film forming ingredient in hair cosmetic products under the consideration of ecological aspects. *Sonderdr Parfum Kosmet* 1983;64:367-71.
4. Hirano S, Moriyasu T. N-(carboxyacyl) chitosans. *Carbohydr Res* 1981;92:323-7.
5. Muzzarelli RAA, Ilari P, Petrarulo M. Solubility and structure of N-carboxymethyl chitosan. *Int J Biol Macromol* 1990;16(4):177-80.
6. Sashiwa H, Uraki Y, Saimoto H, Shigemasa Y, Tokura S. Lysozyme susceptibility and substitution site by chemical modification. *Int J Biol Macromol* 1990;12:295-6.
7. Frost AA, Pearson RG. Kinetics and mechanism. La Habana: Instituto del Libro, 1968:28-35.

Recibido: 17 de octubre de 1997. Aprobado: 20 de diciembre de 1997.

*Lic. Sol A. Fernández Monagas*. Universidad de La Habana. Facultad de Farmacia y Alimentos. San Lázaro y L, El Vedado, municipio Plaza de La Revolución, Ciudad de La Habana, Cuba.