

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИФФУЗИИ КАТЕХОЛАМИНОВ В ГИДРОГЕЛЕВЫХ СРЕДАХ РАЗЛИЧНОГО СОСТАВА

Гильфанов Р.М.¹, Черенков И.А.^{1,2}, Сергеев В.Г.^{1,2}, Иванова И.Л.²

¹ Удмуртский государственный университет

ул. Университетская, 1, г. Ижевск, 426034, РФ; e-mail: ivch75@yandex.ru

² Ижевская государственная медицинская академия

ул. Коммунаров, 246, г. Ижевск, 426034, РФ

Поступила в редакцию: 25.07.2019

Аннотация. В работе рассмотрено электрохимическое поведение адреналина и дофамина в гидрогелевых средах на основе гуаровой камеди и полиакриламида с использованием графитовых электродов, модифицированных поли(толуидиновым синим). Методом циклической вольтамперометрии проведена оценка диффузии катехоламинов в гидрогелях различного состава. Обнаружено, что исследованные гелеобразователи существенно влияют на электрохимические превращения в системе «поли(толуидиновый синий)-катехоламины». Показано, что результирующие характеристики ЦВА определяются не только электрохимическими превращениями адреналина и дофамина на поверхности электрода, но и физико-химическими свойствами гидрогелеобразователя. Отмечено микроконцентрирующее действие гидрогеля, что в ряде случаев позволяет регистрировать пиковые значения силы тока в несколько раз выше, чем в водной среде. Присутствие на электроде гидрогеля способствует более полной регистрации редокс-превращений катехоламинов и их метаболитов. Адреналин и дофамин обладают разными диффузионными и адсорбционными свойствами в отношении гуаровой камеди и полиакриламида, что отражается количественными и качественными различиями кривых ЦВА.

Ключевые слова: адреналин, дофамин, поли(толуидиновый синий), гуаровая камедь, полиакриламид, циклическая вольтамперометрия.

Катехоламины являются редокс-активными соединениями, окислительно-восстановительные превращения которых играют важную роль, как в физиологических условиях, так и при развитии ряда патологических процессов [1, 2]. Предложено широкое разнообразие электрохимических детекторов дофамина и адреналина, использующих различные способы получения аналитического сигнала [3-6]. Перспективным подходом признается применение электродов, модифицированных электроактивными полимерами [4,7]. В этом случае в качестве химического сенсора выступает система «электроактивный полимер-электрод», что позволяет повысить чувствительность и специфичность определения и, в перспективе, снизить стоимость датчика.

С точки зрения фундаментальных исследования биологических процессов большой интерес представляют электрохимические модели с использованием гидрогелевых сред, поскольку диффузионные ограничения, возникающие в таких условиях, способны существенно влиять на результирующий электрохимический сигнал [8-10]. При этом условия гидрогелевой среды наиболее соответствуют процессам, происходящим в клетках и тканях. Существует и практический аспект – гелеобразователи применяются как носители лекарственных средств [11], и электрохимические техники исследования катехоламинов и родственных им соединений могут быть использованы для обоснованного выбора гелевого носителя, оценки качества препаратов с точки зрения диффузионной подвижности действующего вещества, а в перспективе – для мониторинга и управления его выделением.

Целью настоящей работы стало электрохимическое исследование диффузии дофамина и адреналина в гидрогелях на основе модифицированной гуаровой камеди (*Esqflor HM22*) и полиакриламида, модифицированного катионными радикалами (*Rheovis CSP*), на планарном графитовом электроде, покрытом поли(толуидиновым синим) (полиТС).

Для регистрации вольтамперограмм и получения электроактивного полимера использовали потенциостат-микроамперметр «Эколаб-2А-100» (ООО «Эковектор», Россия, Ижевск). Электрополимеризацию проводили по известным методикам [12, 13], используя в качестве основы планарные графитовые электроды (ООО «Автоком», Россия, Москва). После электрополимеризации оценивали остаточную активность полимера в среде фосфатно-солевого буфера. Измерения проводили в диапазоне потенциалов +600...–600 мВ, скорость развертки – 90 мВ/с, 4 цикла. Полученные данные использовали как фоновые показатели в серии экспериментов с адреналином и дофамином. Для анализа электрохимического поведения катехоламинов использовали диапазон потенциалов -1200...+900 мВ. В ячейку вносили дофамин и адреналин до конечной концентрации 1 мМ. Все значения потенциалов приведены относительно хлорсеребряного электрода.

ПолиТС характеризуется хорошо воспроизводимым окислительно-восстановительным поведением близким к обратимому. На ЦВА это отражается формированием характерных пиков, которые сохраняются при внесении в ячейку адреналина (рис. 1а). По прошествии 60 минут происходит почти двукратное увеличение обратимых пиков восстановления и окисления в диапазоне потенциалов $E_{pa} = +200$ мВ до $E_{pk} = -200$ мВ. Адреналин, вероятно, вступает во взаимодействие с полиТС, усиливая его электрохимические превращения. Гелевая среда формирует диффузионные ограничения, обеспечивая рост силы тока во времени.

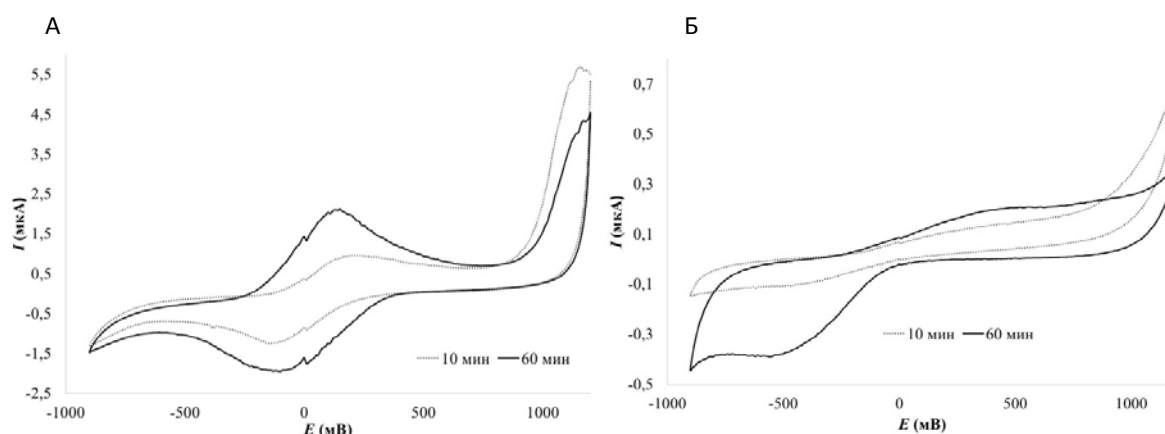


Рисунок 1. Циклическая вольтамперограмма модифицированного полиТС графитового электрода с гелевой подложкой на основе гуаровой камеди (*Esafloor HM22*) в среде: А – фосфатно-солевого буферного раствора, содержащего адреналин, Б – фосфатно-солевого буферного раствора, содержащего дофамин

При этом на ЦВА адреналина и дофамина на модифицированном электроде по прошествии 60 минут при потенциале $E_{pa} = +1200$ мВ происходит падение значений тока с $I_0 = 5,6$ до $I_{60} = 4,3$ в случае с адреналином, и с $I_0 = 0,8$ до $I_{60} = 0,4$ мкА в случае с дофамином.

Внесение дофамина приводит к вырождению пиков окисления-восстановления полиТС (рис. 16). При использовании гелевой подложки из гуаровой камеди (*Esafloor HM22*) обнаружено появление новых катодных и анодных пиков на вольтамперной кривой дофамина: небольшой анодный пик при потенциале $E_{pa} = +500$ мВ и катодный пик при потенциале $E_{pk} = -540$ мВ, которые могут соответствовать реакциям окисления дофамина до дофамин-орто-хинона, а затем частичного его восстановления до дофамина, опосредуемых полиТС.

Использование полиакриламида в качестве гелеобразователя на поверхности модифицированного полиТС графитового электрода при электрохимическом исследовании адреналина позволяет регистрировать многоэтапный процесс его окислительных превращений (рис. 2А). Использование других сред не позволяло нам так полно фиксировать данный процесс.

Характерный анодный пик при потенциале $E_{pa} = +260$ мВ достигает значение силы тока $I = +0,9$ мкА и, вероятно, соотносится с процессом окисления дегидроадреналина до адренохрома, опосредованного полиТС. Также на вольтамперной кривой появляются два катодных пика: пик восстановления при потенциале $E_{pk} = -140$ мВ и пик при потенциале $E_{pk} = -280$ мВ. Можно предположить, что первый пик соответствует восстановлению адренохрома в лейкоадренохром, а второй – восстановлению оксоадренохрома в лейкооксоадренохром.

При этом стоит отметить, что вольтамперные кривые адреналина не показывают каких-либо значительных изменений во времени. Вероятно, полиакриламидный гель обладает лучшей диффузионной проницаемостью для адреналина, чем камедь.

При анализе дофамина (рис 2Б) по прошествии 60 минут отмечено образование отчетливо выраженного анодного пика при потенциале $E_{pa} = +180$ мВ, ток в данной области растет: $I_0 = 0,11$; $I_{60} = 0,9$ мкА. При использовании других гелеобразователей в данной области потенциалов при внесении в систему дофамина мы не фиксировали окислительно-восстановительных превращений. Можно предположить, что полиакриламид *Rheovis CSP*, благодаря катионным свойствам, позволяет выявить одну из окислительных реакций метаболитов дофамина в данной области потенциалов.

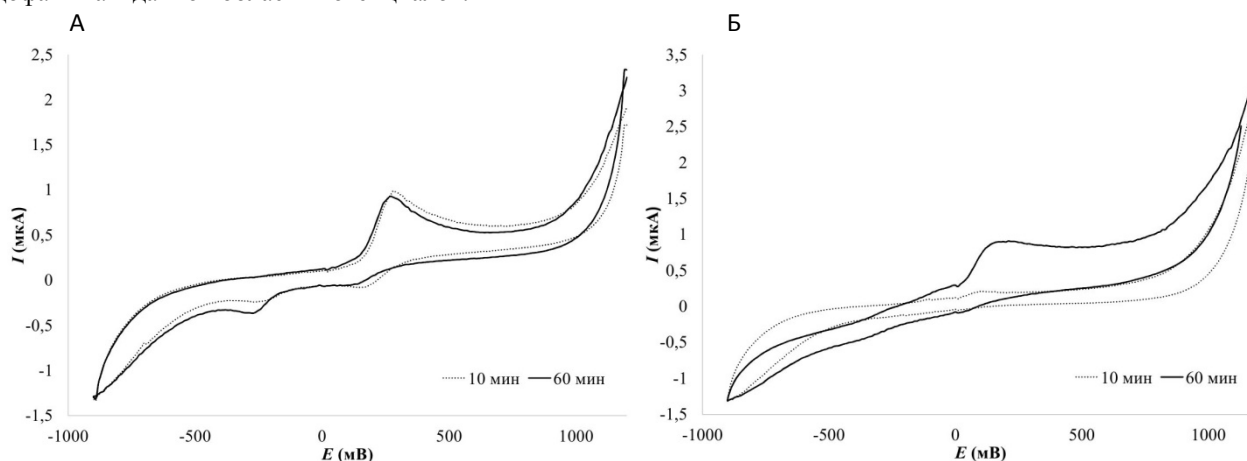


Рисунок 2. Циклическая вольтамперограмма модифицированного поли(ТС) графитового электрода с гелевой подложкой на основе полиакриламида (*Rheovis CSP*) в среде: А – фосфатно-солевого буферного раствора, содержащего адреналин, Б – фосфатно-солевого буферного раствора, содержащего дофамин

Таким образом, наиболее выраженные диффузионные процессы, как для адреналина, так и для дофамина зафиксированы в среде гидрогеля на основе гуаровой камеди. Они сопровождаются ростом пиковых токов во времени. В этом гидрогеле наибольшее влияние на окислительно-восстановительные свойства полиТС оказывает дофамин, качественно изменяя характер кривых ЦВА. Гидрогель на основе акриламида, по-видимому, накладывает меньшие диффузионные ограничения на электрохимическое поведение адреналина, позволяя при этом более детально исследовать его последовательные окислительно-восстановительные превращения. Вольтамперные кривые ЦВА, в исследованных гидрогелях, различны для адреналина и дофамина.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-015-00177.

Список литературы / References:

1. Сирота Т.В. Участие карбонат/бикарбонатных ионов в супероксидгенирующей реакции автоокисления адреналина. *Биомедицинская химия*, 2015, т. 61, № 1, с. 115-124. [Sirota T.V. Involvement of carbonate/bicarbonate ions in the superoxide-generating reaction of adrenaline autoxidation. *Biomedicinskaya himiya*, 2015, vol. 61, no. 1, pp. 115-124. (In Russ.)]
2. Сирота Т.В. Действие ионов металлов с постоянной валентностью на свободнорадикальный процесс автоокисления адреналина. *Биофизика*, 2016, т. 61, № 1, с. 22-27. [Sirota T.V. Effect of Metal Ions with Fixed Valence on Free Radical Process of Adrenaline Autoxidation. *Biofizika*, vol. 61, no. 1, pp. 22-27 (In Russ.)]
3. Rekha B., Swamy B.E.K., Ganesh P.S. Poly(amoxicillin) Modified Carbon Paste Electrode for the Determination of Dopamine: A Cyclic Voltammetric Study. *Anal. Bioanal. Electrochem.*, 2016, vol. 8, № 2, pp. 184-192.
4. Lavanya M., Reddy Y.V.M., Sundupalle K., Venu M. Madhavi G. Selective Determination of Dopamine in Presence of Ascorbic Acid by using Triton X-100 Poly(Safranin) Modified Carbon Paste Electrode. *Anal. Bioanal. Electrochem.*, 2015, vol. 7, no. 5, pp. 555-568.
5. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании реакции автоокисления адреналина: возможность полярографического определения активности супероксиддисмутазы и антиоксидантных свойств различных препаратов. *Биомедицинская химия*. 2012, т. 58, № 1, с. 77-87. [Sirota T.V. A new approach to studying the autoxidation of adrenaline: possibility of the determination of superoxide dismutase activity and the antioxidant properties of various preparations by polarography. *Biomedicinskaya himiya*, 2012, vol. 58, no. 1, pp. 77-87. (In Russ.)]
6. Cuadrado C., Ibarra L., Hurtado J., García-Beltrán O., Nagles E. Electrochemical sensors for dopamine using graphene-cobalt(II) complex modified glassy carbon electrode by adsorptive voltammetry. *Anal. Bioanal. Electrochem.*, 2016, vol. 8, no. 7, pp. 910-921.
7. Narayana P.V., Reddy T.M., Gopal P., Raghu P., Reddaiah K., Srinivasulu M. Development of Trypan Blue Polymer Film Based Electrochemical Sensor for the Determination of Dopamine and its Simultaneous Detection in Presence of Ascorbic Acid and Uric acid: A Voltammetric Method. *Anal. Bioanal. Electrochem.*, 2014, vol. 6, no. 4, pp. 450-460.
8. Черенков И.А. Раевских К.С., Сергеев В.Г., Кривилев М.Д. Моделирование протеазной активности с использованием электрохимического интерфейса. *Актуальные вопросы биологической физики и химии*. 2018, т. 3, № 2, с. 422-426. [Cherenkov I.A. Raevskih K.S., Sergeev V.G., Krivilev M.D. Modeling protease activity using the electrochemical interface. *Aktual'nye voprosy biologicheskoy fiziki i himii*. 2018, vol. 3, no. 2, pp. 422-426. (In Russ.)]
9. Черенков И.А., Кропачева Т.Н., Перевозчиков Е.А., Сергеев В.Г. Электрохимическая оценка метаболической активности клеток родококков, иммобилизованных на планарном графитовом электроде. *Технологии живых систем*, 2015, т. 12, № 2, с. 12-19. [Cherenkov I.A. Kropacheva T.N. Perevozchikov E.A. Sergeev V.G. Electrochemical assessment of metabolic activity of rhodococcal cells immobilized on planar graphite electrode. *Tekhnologii zhivyyh sistem*, 2015, vol. 12, no 2, pp. 12-19. (In Russ.)]
10. Stoytcheva M., Zlatev R., Cosnier S., Arredondo M. Square wave voltammetric determination of trypsin activity. *Electrochim. Acta*, 2012, vol. 76, pp. 43-47.
11. Скоромец А.А., Одинак М.М., Якупов Э.З., Литвиненко И.В., Залялова З.А., Тимофеева А.А., Киртаев С.Ю., Богданов Р.Р., Агафина А.С., Chatamra K., Робисон В., Бенеш Дж., Латыпова Г.Р., Ершова М.В., Иллариошкин С.Н. Леводопа-карбидопа интестинальный гель в терапии больных с развернутыми стадиями болезни Паркинсона: результаты 12-месячного открытого исследования. *Журнал неврологии и психиатрии*, 2017, № 2, с. 22-31. [Skoromec A.A., Odinak M.M., Yakupov E.Z., Litvinenko I.V., Zalyalova Z.A., Timofeeva A.A., Kirtaev S.Yu., Bogdanov R.R., Agafina A.S., Chatamra K., Robieson W., Benesh J., Latypova G.R., Ershova M.V., Illarioshkin S.N. Levodopa-carbidopa intestinal gel in the treatment of patients with Parkinson disease: results of a 12-month open study. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, 2017, no. 2, pp. 22-31]
12. Karyakin A.A., Karyakina, E.E., Schmidt H.-L. Electropolymerized Azines: A New Group of Electroactive Polymers. *Electroanalysis*, 1999, vol. 11, no. 3, pp. 93-110.
13. Barsan M.M., Pinto E.M., Brett C.M.A. Methylene blue and neutral red electropolymerisation on AuQCM and on modified AuQCM electrodes: an electrochemical and gravimetric study. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2011. vol. 13, no. 12, pp. 5462-5471.

ELECTROCHEMICAL MODELING DIFFUSION OF CATECHOLAMINES IN DIFFERENT COMPOSITION OF HYDROGEL MEDIA**Gil'fanov R.M.¹, Cherenkov I.A.^{1,2}, Sergeev V.G.^{1,2}, Ivanova I.L.²**¹Udmurt State University*Universitetskaya str., 1, Izhevsk, 426034, Russia; e-mail: ivch75@yandex.ru*²Izhevsk State Medical Academy*Kommunarov str., 246, Izhevsk, 426034, Russia*

Abstract. Electrochemical behavior of adrenaline and dopamine in hydrogel guar gum and polyacrylamide media was shown in the research. Graphite electrodes modified by (poly)toluidine blue were used. We evaluated diffusion of catecholamines in hydrogels using cyclic voltammetry (CVA) method. It was identified interaction between the hydrogel medium and a system "dye-a catecholamine". It was shown that physical and chemical properties of hydrogel affect the characteristics of cyclic voltammetry as well as the electrochemical transformations of adrenaline and dopamine. It was marked microconcentric action of the hydrogel. In some cases it allows to record higher peak value of the current than in the aquatic environment. The presence of hydrogel on the electrode contributes to a more complete registration of redox transformations of catecholamines and their metabolites. The CVA curves have quantitative and qualitative differences because of different diffusion and adsorption properties of adrenaline and dopamine in such medium.

Key words: *adrenaline, dopamine, poly (toluidine blue), guar gum, polyacrylamide, cyclic voltammetry.*