

РОЛЬ И МЕСТО ЭЛЕКТРОАНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ В РЕШЕНИИ ПРОБЛЕМ БИОМЕДИЦИНЫ

Будников Г.К., Евтюгин Г.А., Широкова В.И.[▲]

*Казанский (Приволжский) федеральный университет,
Химический институт им. А.М. Бутлерова 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18,
Herman.Budnikov@ksu.ru*

*▲Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН,
119990, г. Москва, ул. Косыгина, 19*

Известно, что многие биологически активные соединения одновременно проявляют и электрохимическую активность, то есть способны вступать в реакции электронного переноса на границе раздела электрод - раствор. Вполне понятно, что методы электроаналитической химии не могли не найти широкого применения при изучении объектов биологии и медицины. Период плодотворного практического использования методов электроанализа этих объектов охватывает почти сто лет. Еще на заре развития электрохимических методов анализа (ЭМА) объекты биологии, медицины и фармации привлекали внимание исследователей. Это, прежде всего, относится к классической полярографии, в меньшей мере к потенциометрии и вольтамперометрии. В 30-х годах прошлого века чешский исследователь Р. Брдичка обнаружил на полярограмме каталитические волны выделения водорода от белков в аммонийно-аммиачных буферных растворах в присутствии солей кобальта. Впоследствии этот метод был применен в медицине для диагностики раковых заболеваний, а затем и других. Этот метод известен как серологическая реакция Брдички. Суть способа состоит в сопоставлении величин токов каталитического выделения водорода на ртутном электроде в растворах, содержащих различные количества SH-групп, т.е. тиолов, в сыворотках крови человека. В исследования этого типа полярографических волн большой вклад внесли и российские электроаналитики.

В последнюю четверть прошлого века интерес в этой области полярографии и вольтамперометрии постепенно переместился на органический анализ, прежде всего объектов биомедицины. В настоящее время электрохимические методы определения биологически активных веществ как компонентов в объектах биомедицины имеют широкое распространение.

В рамках собственно органического анализа с применением ЭМА среди биологически активных веществ для практического применения представляют интерес многие классы низкомолекулярных органических соединений (антиоксиданты, антибиотики, другие лекарственные средства), которые стали относить к объектам биоаналитической химии.

С развитием биологии, медицины и смежных с ними областей и повышением внимания к вопросам охраны окружающей среды вопрос интерес к методам определения биологически активных и лекарственных веществ, продуктов жизнедеятельности организмов, ферментов и т.п. Для решения проблем, связанных с собственно электродами, исследователи обратили внимание на поверхность электродов (сенсоров), материалы, из которых их можно изготовить, механические и другие свойства, влияющие на природу отклика, его изменчивость под влиянием различных факторов.

Оценивая во времени развитие исследований по «электродной» тематике можно выделить два подхода к созданию электродов. Первый из них состоит в замене ртути на другой материал (углеродные материалы, благородные металлы, включая те, на поверхности которых образуются оксидные пленки и т.п.). Воспроизводимость поверхности таких электродов, влияющая в конечном счете, на качество измерения, т.е. амперометрического отклика, достигается различными способами – от механического

(химического с применением агрессивных реагентов) до электрохимического (автоматизированного по программе, задаваемой измерительной аппаратурой).

Поколение электродов, которые появились в основном в последней четверти прошлого века и интенсивно разрабатываемое сейчас, основано на химическом модифицировании их поверхности. Как известно, при модифицировании поверхности электрода меняют способность электрода к вольтамперометрическому отклику в результате появления специфических свойств. С позиций методологии науки в рассматриваемом случае синтезируют на электроде свойство, а не соединение. При этом «универсальность» электрода (например, как в случае ртутного капельного электрода) в заметной мере падает, либо сводится практически к минимуму. Однако специфичность или селективность отклика за счет модификации возрастает, а в случае модификации с применением биоматериалов становится максимальной.

Электродная поверхность с иммобилизованным модификатором функционирует как преобразователь сигнала, который генерирует биослой. Функционально такие сенсоры сопоставимы с датчиками живых организмов – биорецепторами, преобразующими сигналы, поступающие из внешней среды, в электрические, которые легко измерить. Способы модификации электродов и механизмы амперометрического отклика подробно обсуждены в литературе (например, в книге « Модифицированные электроды для вольтамперометрии в химии, биологии и медицине» /Г.К. Будников, Г.А. Евтушин, В.Н. Майстренко. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2009. 416 с.), а основные подходы при конструировании сенсоров на принципах нанотехнологий рассматривались в докладе авторов на конференции «ЭМА-2012», 2-6 июня 2012 (статья по докладу выходит в №7 2013 г. в «Журнале аналитической химии»). Представляет интерес обобщить последние результаты исследований по заявленной проблеме и дать их приблизительную картину. Конференции этого периода по ЭМА за рубежом и в нашей стране, в том числе и «ЭМА-2012» здесь, в Абзаково, также отражали эту тенденцию. Причем в последнее десятилетие статистика их применения показывает устойчивый рост числа публикаций в журналах.

В докладе представлен материал, иллюстрирующий схемы откликов на социально важные компоненты, в том числе белки, яды, наркотики, лекарства, другие низкомолекулярные соединения, возбудители болезней – вирусы и т.д. В нем приведены также схемы амплификации сигнала, повышения его селективности, передовые нанотехнологии на принципах квантовых точек, особо принципы label free technology в ЭМА (сейчас по ним идут даже конференции), схемы экзотических модификаций графена, например, молекулярным азотом, различные комбинированные подходы при создании электродов - сенсоров, их аналитические характеристики и т.д.

Кроме оригинальных статей обширная информация по применению ЭМА в биомедицине содержится в отдельных главах ряда коллективных монографий серии «Проблемы аналитической химии», издаваемой по инициативе Научного совета по аналитической химии РАН. В последней книге этой серии «Фармацевтический анализ» представлен достаточно обширный материал, который даже кратко невозможно изложить в одном докладе. Отметим также книгу «Applications of Electrochemistry in Medicine» (Series: Modern Aspects of Electrochemistry, Vol. 56. 2013. Schlesinger, Mordechay (Ed.). ISBN: 978-1-4614-6147-0 (Print) 978-1-4614-6148-7 (Online)). В ней несколько глав посвящены прикладным разработкам, которые завершились коммерческими продуктами, получившими применение в клинике и терапии.

АПТАСЕНСОРЫ НА ОСНОВЕ НАНОРАЗМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ

Евтюгин Г.А., Будников Г.К., Порфириева А.В.

*Кафедра аналитической химии Казанского (Приволжского) федерального университета,
Казань, 420008, ул.Кремлевская, 18, gevtyugyn@gmail.com*

Аптамеры – синтетические олигонуклеотиды, получаемые с помощью подходов комбинаторной химии и обладающие высоким сродством к определенным субстратам [1]. Благодаря вариабельности структуры, устойчивости в синтезе и включении в состав биосенсоров, а также возможностям введения меток и функциональных групп аптамеры находят растущее применение в составе биосенсорных устройств для определения белков и низкомолекулярных соединений - метаболитов, токсинов, фармпрепаратов. Создание биосенсоров с включением аптамеров, называемых аптасенсорами, требует новых подходов к формированию биочувствительных слоев и регистрации сигнала. Применение наноразмерных материалов, таких как наночастицы металлов, их оксидов и комплексов с органическими лигандами, электрополимеризованных покрытий, углеродных нанотрубок и углеродной черни позволяет улучшить операционные и аналитические характеристики аптасенсоров и расширить сферу их применения. В представленном обзоре обобщены собственные и литературные данные о конструировании аптасенсоров с включением наноразмерных материалов и об основных принципах регистрации их сигнала на аналиты. Основное внимание удалено аптасенсорам, не предусматривающим применения в составе аптамеров меток (label free aptasensors).

Рассмотрены основные способы включения наноразмерных материалов в состав биочувствительного слоя аптасенсоров, пути иммобилизации аптамеров и факторы, определяющие характеристики аптасенсоров в зависимости от способа формирования поверхностного слоя.

На примере определения тромбина и токсинов рассмотрены основные подходы к получению сигнала электрохимических аптасенсоров, включающие измерение вольтамперометрического сигнала редокс-активных маркеров – медиаторов электронного переноса (феррицианиды, фенотиазины) и импедиметрическую характеристику переноса заряда на границе биочувствительного слоя и раствора. Проведено сравнение чувствительности различных способов измерения сигнала аптасенсоров (вольтамперометрия, измерение электрохимического импеданса, пьезокварцевое микровзвешивание), а также возможности, предоставляемые использованием электрополимеризованных компонентов – полифенотиазинов, полифеназинов и полианилина.

Проведен сопоставительный анализ потенциальных ограничений применения аптасенсоров в контроле реальных объектов и способы подавления мешающего влияния матричных компонентов, включая подавление неспецифической сорбции сывороточных белков и стерические ограничения доступа анализаторов к центрам связывания аптамеров.

Исследования проводили при поддержке РФФИ (11-03-00381-а), Федеральной целевой программы «Кадры» (16.740.11.0496) и стипендии Президента РФ молодым ученым (грант № СП-1337.2012.4.)

1. Aptamers in Bioanalysis (M.Mascini Ed.), John Wiley & Sons, 2009.