

## АЛГОРИТМЫ РАСЧЁТА ПАРАМЕТРОВ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО БИОСЕНСОРА

В.В. Шумянцева<sup>1,2\*</sup>, В.В. Пронина<sup>1</sup><sup>1</sup>Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича,  
119121 Москва, ул. Погодинская, 10; \*e-mail: viktoria.shumyantseva@ibmc.msk.ru<sup>2</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва

Цель работы – представить экспериментальные результаты в виде алгоритма анализа модификации печатного графитового электрода, включая возможность его регенерации для необратимо окисляющихся биологически активных соединений. Разработан протокол количественного анализа и исследования механизма взаимодействия лекарственный препарат-ДНК методом дифференциально-импульсной вольтамперометрии, включающий следующие параметры: константу связывания комплекса, свободную энергию Гиббса и электрохимический коэффициент токсичности препарата.

**Ключевые слова:** электрохимический биосенсор; электроактивная поверхность электрода; константа связывания; анализ ДНК; фармакогеномика

DOI: 10.18097/BMCRM00178

## ВВЕДЕНИЕ

Электрохимический биосенсор является перспективным устройством для количественного анализа биологических объектов, которые оказывают решающее значение для диагностики, лечения и понимания этиологии различных заболеваний. Знания о механизме действия лекарства на биологический объект (ферменты, белки, нуклеиновые кислоты) или лиганд-рецепторных взаимодействий открывают широкие перспективы для понимания природы многих типов заболеваний, механизма действия лекарств на организм и разработки новых фармацевтических препаратов [1-3].

Анализ разработанных электрохимических биосенсоров начинается с исследования электрохимической эффективности применяемого модификатора, затем проводится анализ концентрационных зависимостей биологических объектов путём расчёта метрологических и электрохимических параметров электродов. Наноструктурирование поверхности рабочего электрода позволяет проводить селективный анализ, повысить чувствительность и снизить предел определяемых концентраций. Миниатюризация системы, проведение прямого анализа с отсутствием дополнительных реактивов, минимальный расход реактивов и применение портативных приборов расширяют возможности использования электрохимического биосенсора в клинических лабораториях [4].

В настоящей работе на примере молекулы ДНК и лекарственного препарата ацетата абиратерона представлены эксперименты для определения метрологических и электрохимических характеристик модифицированного наноматериалами электрохимического биосенсора и разработан алгоритм описания механизмов взаимодействия биологический объект (ДНК)-лекарство или лиганд-рецептор.

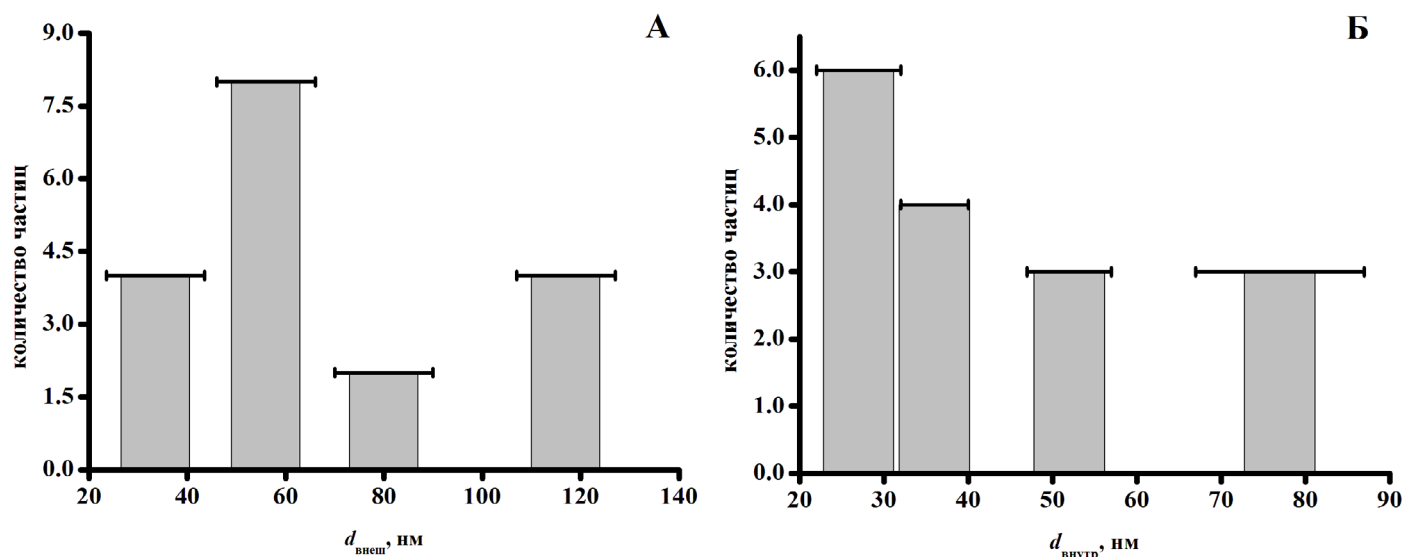
## 1. ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕРЕНИЯ: МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Электрохимические измерения проводили на приборе потенциостат/гальваностат Autolab 302N (Metrohm Autolab BV, Нидерланды) с программным обеспечением Nova (версия 2.0). Были использованы трехконтактные печатные графитовые электроды (ПГЭ) фирмы ColorElectronics (Россия) с графитовым печатным и вспомогательным электродами и хлоридсеребряным электродом сравнения. Все электрохимические измерения проводили в 0.1 М калий-фосфатном буфере (рН 7.4) содержащем 0.05 М NaCl.

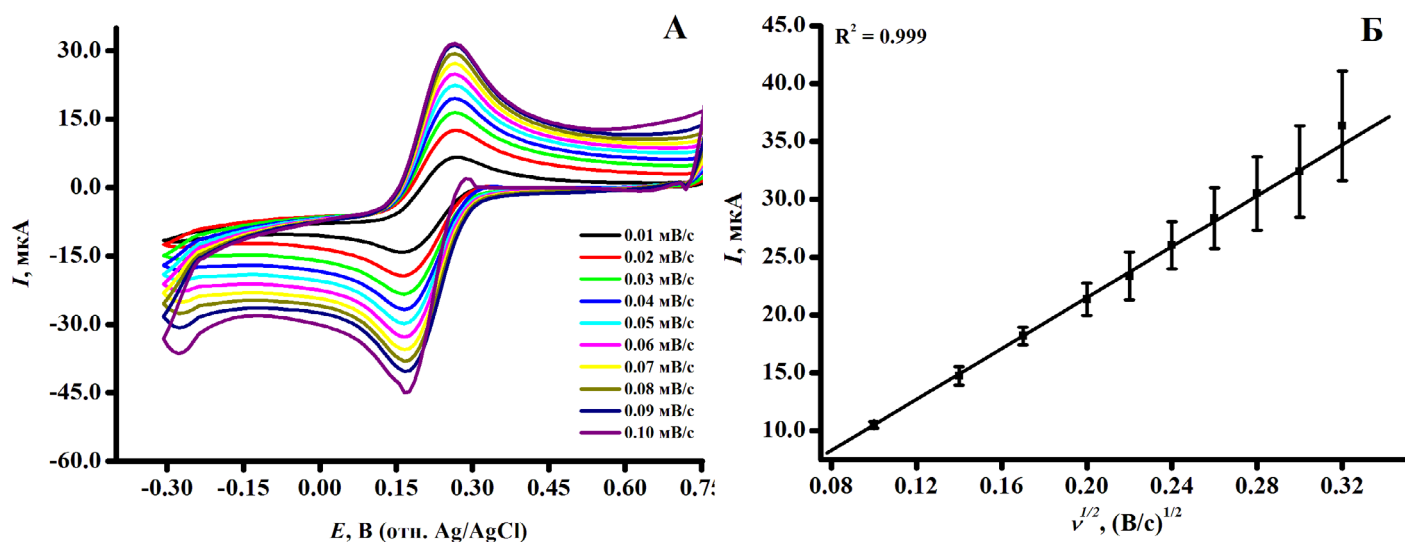
Для модифицирования рабочего электрода на его поверхность наносили 2 мкл дисперсии 1 мг/мл функционализированных углеродных нанотрубок (фУНТ) в этаноле, затем электроды инкубировали 15 мин при температуре 37°C до полного высыхания жидкости. Для последующего модифицирования на модифицированную поверхность электрода фУНТ дополнительно наносили 2 мкл дисперсии 1 мг/мл TiO<sub>2</sub> в этаноле и инкубировали 15 мин при температуре 37°C до полного высыхания жидкости. Для модифицирования электродов коммерческой дисперсией Tuball Batt (УНТ в карбоксиметилцеллюлозе), дисперсию сначала разбавляли водой в соотношении 1:5, затем наносили 2 мкл на поверхность рабочего электрода и инкубировали 15 мин при температуре 37°C до полного высыхания жидкости.

Электроактивную поверхность электродов оценивали по поведению внешнего электролита 5 мМ феррицианида калия методом циклической вольтамперометрии в вертикальном режиме измерений. Модифицированный электрод погружали в кювету, содержащую 1 мл раствора. Измерения проводили при различных скоростях развертки потенциалов 10 ÷ 100 мВ/с с интервалом 10 мВ/с при комнатной температуре в аэробных условиях.





**Рисунок 1.** А – Распределительная диаграмма функционализированных углеродных нанотрубок по размеру их внешнего диаметра. Б – Распределительная диаграмма функционализированных углеродных нанотрубок по размеру их внутреннего диаметра. Горизонтальные линии представляют собой распределение диаметра углеродных нанотрубок.



**Рисунок 2.** А – Циклические вольтамперограммы ПГЭ, модифицированных последовательно дисперсиями фУНТ и  $\text{TiO}_2$ . Измерения проводили с различной скоростью развертки потенциала растворе 5 мМ гексацианоферрата калия. Б – Зависимость тока восстановления от корня квадратного из скорости сканирования для ПГЭ, модифицированных последовательно дисперсиями фУНТ и  $\text{TiO}_2$ .

Электроанализ биообъектов проводили в горизонтальном режиме измерений, при нанесении 60 мкл анализируемой пробы в 0.1 М калий-фосфатном буфере, pH 7.4 на поверхность рабочего электрода. При нанесении 2 мкл раствора с последующей инкубацией 15 мин при температуре 37°C биологический объект может быть иммобилизован на поверхности модифицированного электрода. Дальнейший электрохимический анализ проводится в капле 60 мкл калий-фосфатного буфера, pH 7.4.

Электроанализ комплексов ДНК-лекарство проводили в горизонтальном режиме измерений при нанесении 60 мкл анализируемой пробы в калий-фосфатном буфере, pH 7.4. В вертикальном режиме электроанализ проводили с иммобилизованным биологическим материалом или лигандом в 1 мл раствора лекарства.

Электрохимическую регенерацию поверхности электрода проводили в капле 60 мкл калий-фосфатного буфера в горизонтальном режиме измерений.

## 2. ПОСТРОЕНИЕ РАСПРЕДЕЛИТЕЛЬНЫХ ДИАГРАММ ПО СРЕДНЕМУ РАЗМЕРУ ЧАСТИЦ МОДИФИКАЦИЙ

Анализ изображений, полученных методом сканирующей электронной микроскопии, позволяет определить положение отдельных наночастиц модификации ПГЭ, а также оценить их средний размер и форму. Исходя из параметра формы (диаметр, длина) строили распределительную диаграмму частиц по размеру. На рисунке 1 представлены диаграммы электродов, модифицированных фУНТ в хлороформе [5].

**Таблица 1.** Электроаналитические характеристики печатных графитовых электродов (ПГЭ), модифицированных фУНТ/TiO<sub>2</sub>, полученные в 5 мМ растворе гексацианоферрата калия. Значения потенциалов и величины пиков окисления и восстановления феррицианида калия представлены для скорости развертки потенциала, равной 50 мВ/с.

Электроаналитические характеристики	Система	
	ПГЭ/фУНТ/TiO <sub>2</sub>	ПГЭ
E <sub>Red</sub> , В (отн. Ag/AgCl)	0.169±0.017	0.087±0.008
E <sub>Ox</sub> , В (отн. Ag/AgCl)	0.256±0.014	0.421±0.041
ΔE, В (отн. Ag/AgCl)	0.084±0.009	0.499±0.052
E <sub>1/2</sub> , В (отн. Ag/AgCl)	0.213±0.015	0.167±0.018
I <sub>Red</sub> , мкА	-23.37±2.06	6.16±0.50
I <sub>Ox</sub> , мкА	24.97±1.82	5.00±0.48
S <sub>электроактивная</sub> , см <sup>2</sup>	0.1355	0.0024

**Примечание.** Относительное стандартное отклонение оценивается не менее чем для трех измерений (n = 3).

Из построенных распределительных диаграмм можно сделать вывод, что для величины внешнего диаметра фУНТ характерен диапазон 200-128 нм, а для величины внутреннего диаметра характерен диапазон 25-85 нм.

### 3. ПРОТОКОЛ РАСЧЁТА ЭЛЕКТРОАКТИВНОЙ ПОВЕРХНОСТИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЭЛЕКТРОДОВ

Для анализа эффективности модификации использовали алгоритм расчета и сравнения электроактивных поверхностей модифицированного и немодифицированного «голого» электродов. На циклических вольтамперограммах (рис. 2А) присутствуют два пика, характеризующие процессы окисления и восстановления на электроде, что свидетельствует об обратимости окисления гексацианоферрата калия. Дальнейший обсчёт пиков проходил по процессу восстановления гексацианоферрата калия. Расчёт электроактивной площади модифицированного электрода осуществляли по уравнению Рэнделса-Шевчика [6-8]:

$$I_{Red} = 2.69 \times 10^5 \times A \times \sqrt{D} \times \sqrt{v} \times C \times n^{3/2} \quad (1)$$

где I<sub>Red</sub> – ток пика восстановления феррицианида [А], А – площадь электроактивной поверхности электрода [см<sup>2</sup>], v – скорость развертки потенциала [В/с], D – коэффициент диффузии [см<sup>2</sup>/с], n – число электронов, участвующих в электрохимической реакции.

Для вычисления значения электроактивной поверхности электрода построен график зависимости интенсивности электроокисления от корня квадратного из скорости сканирования (рис. 2Б). Угловой коэффициент зависимости I<sub>Red</sub> от равен 0.01033\*А, следовательно:

$$A = \frac{tg(\alpha)}{0.01033} \quad (2)$$

Для характеристики процессов на модифицированном электроде рассчитывали потенциалы окисления и восстановления (E<sub>(Red,Ox)</sub>), разность потенциалов (ΔE), полупотенциал (E<sub>1/2</sub>) и интенсивности электроокисления и

**Таблица 2.** Значения электроактивных площадей ПГЭ, модифицированных различными дисперсиями.

Модификация ПГЭ	Электроактивная площадь электрода, см <sup>2</sup>
Немодифицированный электрод	0.0024
Tuball Batt (УНТ в карбоксиметилцеллюлозе)	0.1258
фУНТ в этаноле	0.0121
фУНТ в хлороформе	0.0032
фУНТ/TiO <sub>2</sub>	0.1355

восстановления феррицианида калия (I<sub>(Red,Ox)</sub>) при скорости развертки потенциала 50 мВ/с (табл.1).

Таким образом, чем выше электроактивная поверхность, тем электрод более эффективно будет участвовать в процессе переноса электронов, что обеспечит хорошие электроаналитические характеристики биосенсора. В таблице 2 приведены рассчитанные значения электроактивных поверхностей для различных модификаций.

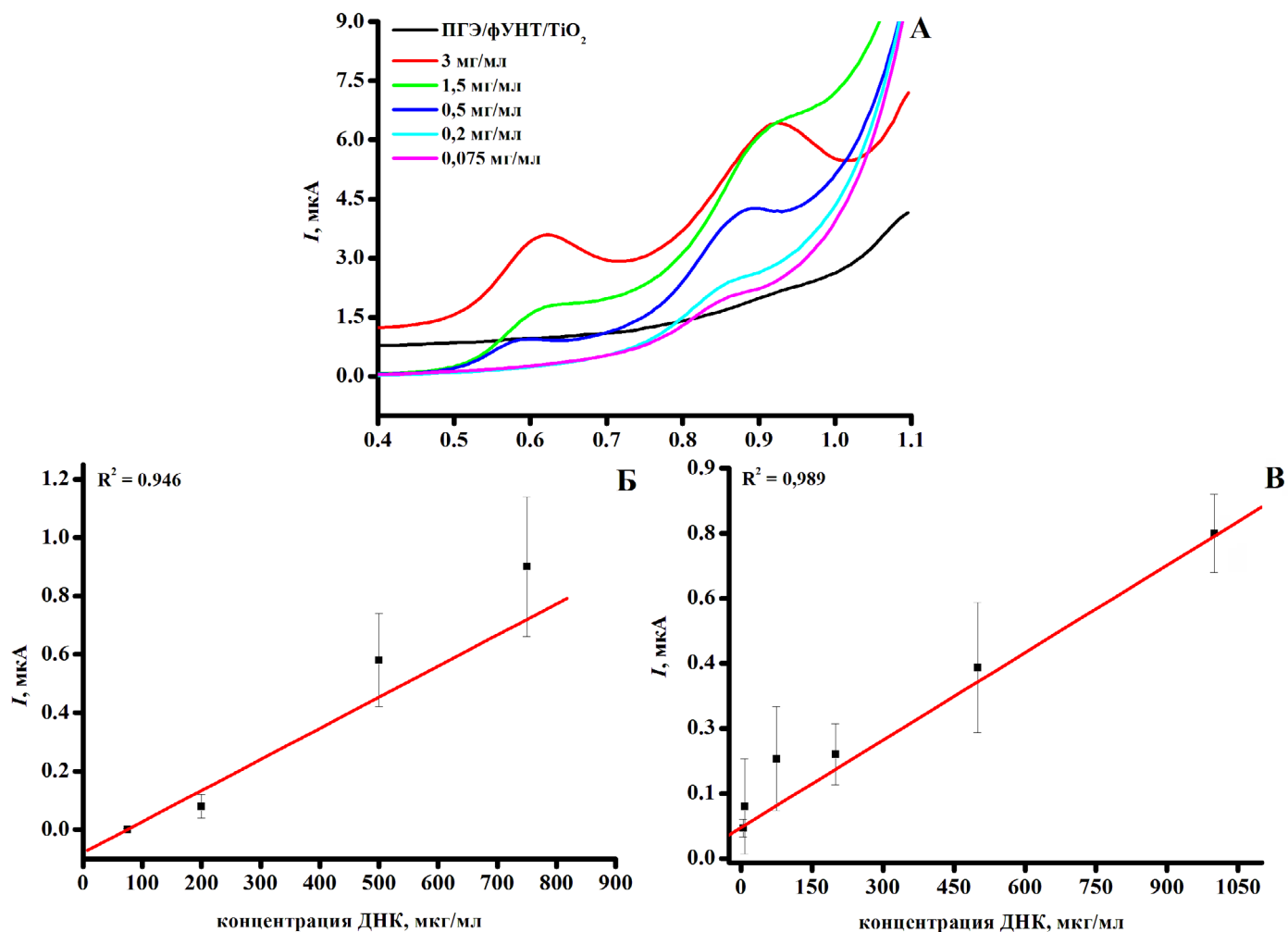
Наиболее электроактивной является модификация послойного нанесения дисперсий фУНТ и TiO<sub>2</sub> (0.1355 см<sup>2</sup>). Некоторые модификации, например, TuballBatt, требуют оптимального соотношения компонентов дисперсии и выбора условий модифицирования. Диспергирующая жидкость так же влияет на электроактивность модификатора, так, фУНТ в этаноле на порядок электроактивнее, чем фУНТ в хлороформе (табл. 2).

### 4. ПОСТРОЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИОННЫХ ЗАВИСИМОСТЕЙ БИООБЪЕКТОВ НА ПРИМЕРЕ ДНК И РАСЧЁТ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ БИОСЕНСОРОВ

Построение концентрационных зависимостей позволяет рассчитать электроаналитические и метрологические параметры электродов с различными модификациями для количественного анализа биологических молекул. Сравнение чувствительности, предела определяемых концентраций и предела количественного обнаружения полученных биосенсоров позволяет разработать оптимальную и эффективную систему определения точной концентрации. Количественный анализ биологического

Таблица 3. Расчёт метрологических и электрохимических параметров электродов.

Параметр	Формула	Расшифровка
Чувствительность	$S = \Delta I / \Delta C$	S – чувствительность [А/М], I – ток [А], C – концентрация
Предел определяемых концентраций	$LOD = k * \sigma / m$	$\sigma$ – стандартное отклонение контрольного измерения, m – наклон калибровочного графика, k – параметр соответствующий статистической достоверности, LOD [мкг/мл]
Предел количественного обнаружения	$LOQ = 10 * \sigma / m$	$\sigma$ – стандартное отклонение контрольного измерения, m – наклон калибровочного графика, LOQ [мкг/мл]

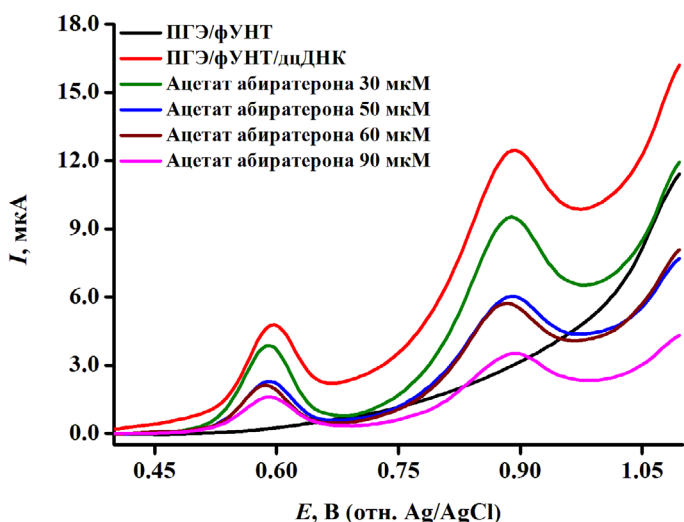


**Рисунок 3.** Электрохимический анализ дцДНК на ПГЭ, модифицированных дисперсией фУНТ /TiO<sub>2</sub>: А – ДИВА ПГЭ/фУНТ/TiO<sub>2</sub> с различной концентрацией дцДНК. На рабочую поверхность электродов наносили 60 мкл дцДНК. Потенциал электронакопления (аккумулирования) 0.4 В, время аккумуляции 15 мин, амплитуда импульса 0,025 В, шаг потенциала 0.005 В, длительность импульса 50 мс, амплитуда модуляции 0.05 В. Все потенциалы отнесены к электроду сравнения Ag/AgCl; Б – Зависимость величины интенсивности электроокисления гуанина от концентрации дцДНК; В – Зависимость величины интенсивности электроокисления аденина от концентрации дцДНК.

объекта проводили по интенсивности электроокисления/электровосстановления его электроактивного центра.

Для построения градуировочных зависимостей ДНК по гуанину и аденину отдельно использовали метод дифференциально-импульсной вольтамперометрии, сопряженной с электронакоплением образцов. В горизонтальном режиме на поверхность ПГЭ наносили 60 мкл ДНК различной концентрации. Электронакопление проводили при постоянном потенциале 0.4 В в течение 15 мин, затем производили измерение ДИВА со следующими параметрами: диапазон потенциалов 0.4 ÷ 1.1 В, амплитуда импульса 0.025 В, шаг потенциала 0.005 В, длительность

импульса 50 мс, амплитуда модуляции 0.05 В. Все потенциалы отнесены к хлоридсеребряному электроду сравнения (Ag/AgCl). Относительное стандартное отклонение оценивают не менее чем для трех измерений ( $n = 3$ ) [9]. На сегодняшний день разработаны электрохимические биосенсорные системы с использованием углеродных наноматериалов в качестве модификации для регистрации изоформ цитохрома P450 [10] и анализа миоглобина (Mb) [11]. Электрохимические биосенсорные системы с использованием модификации коллоидных золотых наночастиц, полученных химическим синтезом, используются в анализе кардиомаркеров [12].



**Рисунок 4.** Исследование влияния ацетата абиратерона различных концентраций на комплексообразование с ДНК. Параметры ДИВА: диапазон потенциалов 0.4 ÷ 1.1 В, амплитуда импульса 0.025 В, шаг потенциала 0.005 В, длительность импульса 50 мс, амплитуда модуляции 0.05 В.

На вольтамперограммах ДНК присутствуют два пика в области потенциалов  $0.55 \pm 0.05$  В и  $0.86 \pm 0.01$  В, которые соответствуют электроокислению гуанина и аденина соответственно (рис. 3А). Были зафиксированы максимальные амплитуды электроокисления пуринов, затем построена линейная зависимость  $I_{\text{ок}}$  от концентрации ДНК (рис. 3Б, В).

На линейном участке графика зависимости интенсивности электроокисления дцДНК от концентрации дцДНК были определены метрологические и электрохимические параметры, представленные в таблице 3 [13-17].

Данный алгоритм позволяет сравнить различные модификации по параметру электроактивной поверхности электродов и на основе электрохимических и метрологических параметров биосенсора объективно оценить их эффективность, провести обоснованный выбор модификации для количественного анализа биосенсора.

## 5. ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ДНК И ЛЕКАРСТВА. РАСЧЁТ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО КОЭФФИЦИЕНТА ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА. РАСЧЁТ КОНСТАНТЫ СВЯЗЫВАНИЯ

Для моделирования взаимодействия ДНК и лекарства проводили расчёт константы связывания. Исходя из значения константы связывания, делали вывод о типе связывания (интеркаляция, взаимодействие лекарства с бороздками ДНК, электростатические взаимодействия). Расчёт константы связывания может быть применен для лиганд-рецепторных взаимодействий, подход является универсальным.

Исследование взаимодействия биологического объекта и лекарства электрохимическим методом анализа начинается с выбора оптимальных условий эксперимента при различном времени инкубации комплекса, затем на рабочую поверхность модифицированного ПГЭ наносят 60 мкл аналита и проводят измерение методом ДИВА при параметрах, используемых

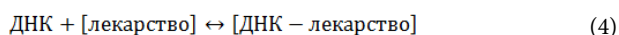
для построения концентрационной зависимости биообъекта, алгоритм 4 (рис. 4). Регистрация концентрационно-зависимого снижения интенсивности электроокисления гуанина и аденина дцДНК соответствует образованию электрохимически менее активного, чем ДНК, комплекса, а также возможность расчёта электрохимического коэффициента токсичности препарата (Т). Информация о смещении потенциала электроокисления пуринов в отрицательную (катодную) или положительную (анодную) область потенциалов даёт возможность охарактеризовать процесс связывания ДНК-лиганд. При интеркаляционном виде связывания регистрируется смещение потенциалов электрохимического окисления ГЦО в положительную (анодную) область потенциалов. Смещение в отрицательную (катодную) область потенциалов может свидетельствовать об образовании водородных связей и/или электростатических взаимодействиях в системе ДНК-лиганд [18-21].

Электрохимический коэффициент токсичности препарата рассчитывают как величина изменения интенсивности пиков электроокисления биологического объекта по формуле 3:

$$T = \left( \frac{T_s}{T_b} \right) * 100\% \quad (3)$$

где  $T_b$  и  $T_s$  – интенсивности пиков электроокисления биологического объекта до и после взаимодействия с лекарством, соответственно. По принятым критериям препарат считается нетоксичным, если коэффициент токсичности (Т), больше 85%; препарат относится к умеренно токсичным, если Т имеет значения от 50 до 85%, и препарат токсичен, если Т меньше 50% [8, 22-24].

Константу связывания для процесса образования комплекса, например, (4) рассчитывают по уравнениям (5-7) при постоянной концентрации, строят графики, оптимальным среди которых является график, представляющий прямую зависимость [18, 25, 26].



$$\frac{1}{[\text{лекарство}]} = \log K_b + \log \left( \frac{I(\text{ДНК} - \text{лекарство})}{I(\text{ДНК}) - I(\text{ДНК} - \text{лекарство})} \right) \quad (5),$$

$$[\text{лекарство}] = \log K_b + \log \left( \frac{I_{\text{ДНК}}}{I(\text{ДНК}) - I(\text{ДНК} - \text{лекарство})} \right) \quad (6),$$

$$\frac{1}{[\text{лекарство}]} = \log K_b + \frac{1}{I(\text{ДНК}) - I(\text{ДНК} - \text{лекарство})} \quad (7),$$

где  $K_b$  – константа связывания ( $M^{-1}$ ),  $I(\text{ДНК})$  – максимальная амплитуда тока электроокисления,  $I(\text{ДНК-лекарство})$  – максимальная амплитуда тока электроокисления комплекса [ДНК-лекарство].

Пересечение линейного графика одной из зависимостей используют для определения значения константы связывания ДНК и лиганда. Расчёт константы связывания подходит не только для анализа ДНК, но и молекул, которые могут электроокисляться, например, лекарственные препараты, в том числе включённые в фосфолипидные наночастицы и другие биологически активные соединения.

Константы связывания для интеркаляции и взаимодействия лиганда с бороздками ДНК находятся

в пределах  $10^5 \div 10^9 \text{ M}^{-1}$ . Для электростатических взаимодействий константы связывания имеют существенно более низкие значения (как правило,  $10^3 \text{ M}^{-1}$ ) [22, 25-30]. На основании анализа полученных результатов по смещению потенциалов электрохимического окисления гуанина и аденина при образовании комплекса [ДНК-лекарство] и значений констант связывания можно сделать вывод о механизме взаимодействия препарата с биологическим объектом.

## 6. РАСЧЁТ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ

Термодинамические параметры используются для понимания химических процессов, а методы расчёта успешно применяются к биологическим процессам. Знание термодинамического профиля связывания лиганда с нуклеиновыми кислотами важно для понимания механизма медико-биологического действия препаратов и разработки новых препаратов с улучшенным лечебным эффектом. Термодинамический анализ связывания лиганда с ДНК основан на анализе экспериментально измеренных изменений свободной энергии Гиббса ( $\Delta G$ ), энтальпии ( $\Delta H$ ) и энтропии ( $\Delta S$ ). Электрохимические методы могут использоваться при расчёте термодинамических параметров ДНК-лекарство и лиганд-рецепторных взаимодействий.

Значение свободной энергии Гиббса позволяет сделать вывод о самопроизвольном протекании реакции комплексообразования при  $\Delta G < 0$  и рассчитывается по формуле 8, энтропийный вклад и энтальпия рассчитываются по формулам 9 и 10:

$$\Delta G = -RT \ln K_b \quad (8)$$

$$\ln K_b = -\frac{\Delta H}{RT} \quad (9)$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (10)$$

где  $\Delta G$  – свободная энергия Гиббса,  $\Delta H$  – изменение энтальпии,  $\Delta S$  – энтропийный вклад,  $R$  – газовая постоянная,  $T$  – температура,  $K_b$  – константа связывания [13].

Для механизма связывания лиганда в бороздках ДНК энтропийный вклад обычно имеет положительный вклад, тогда как интеркаляторы обычно характеризуются отрицательным вкладом энтропии. Положительное изменение энтальпии является благоприятным для интеркаляторов. Таким образом, связывание в области бороздок ДНК в первую очередь регулируется энтропией, а интеркаляция регулируется энтальпией [31].

## 7. ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ ЭЛЕКТРОДА

Для модифицированных электродов с иммобилизованными нековалентно биологически активными соединениями (ДНК, белки, лекарственные препараты), которые необратимо окисляются на поверхности электрода, в частности, пуриновыми гетероциклическими основаниями, после количественного анализа существует возможность проводить электрохимическую очистку для их многократного использования. На поверхность

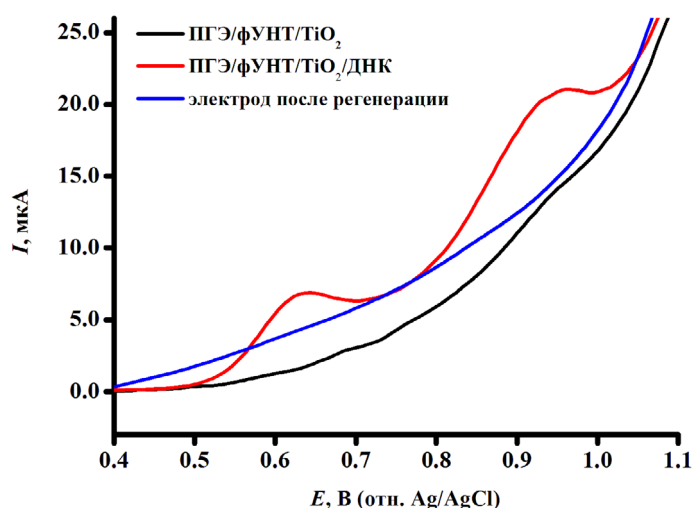


Рисунок 5. ДИВА электродов, модифицированных послойно дисперсиями фУНТ и  $\text{TiO}_2$  с ДНК концентрацией 3 мг/мл.

электрода в горизонтальном режиме наносят 60 мкл биологического объекта необходимой концентрации, и проводят электронакопление по алгоритму 4. Регенерация ПГЭ осуществляется путём проведения 35 повторений метода циклической вольтамперометрии в диапазоне потенциалов  $0.4 \div 1.1 \text{ В}$  для ДНК при скорости развёртки потенциалов  $100 \text{ мВ/с}$  в электролитном буфере (количество повторений для определённого биологического объекта исследуется экспериментально). На рисунке 5 видно, что после регенерации электрода, модифицированного послойно дисперсиями фУНТ и  $\text{TiO}_2$ , отсутствуют сигналы электроокисления пуриновых оснований, что подтверждает отсутствие биологического объекта на электроде.

Таким образом, модифицированный электрод может быть использован несколько раз для определения, например, концентрации пуриновых гетероциклических оснований.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период 2021 - 2030 годы (№122030100168-2).

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или с использованием животных в качестве объектов.

## ЛИТЕРАТУРА

- Mostafa M.I., Tian Y., Anjum S., Hanif S., Hosseini M., Lou B., Xu G. (2022) Comprehensive review on the electrochemical biosensors of different breast cancer biomarkers. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **365**, 131944. DOI:10.1016/j.snb.2022.131944
- Pepe M.S., Etzioni R., Feng Z., Potter J. D., Thompson M.L., Thornquist M., Winget M., Yasui Y. (2001) Phases of Biomarker Development for Early Detection of Cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, **93**, 14, 1054–1061. DOI:10.1093/jnci/93.14.1054
- Lu D., Xu Q., G. Pang G. (2019) A bombykol electrochemical receptor sensor and its kinetics. *Bioelectrochemistry*, **128**, 263-273, 1567-5394. DOI:10.1016/j.bioelechem.2019.04.009
- Ronkainen N.J., Halsall H.B., Heineman W.R. (2010) Electrochemical biosensors. *Chem. Soc. Rev.*, **39**, 1747–1763. DOI:10.1039/B714449K
- Ghosh M., Mandal S., Roy A., Mondal P., Mukhopadhyay S. K., Chakrabarty S., Chakrabarti G., Pradhan S.K. (2021) Synthesis and characterization of a novel nanocarrier for biocompatible targeting of an antibacterial therapeutic

- agent with enhanced activity. Journal of Drug Delivery Science and Technology, **66**, 102821. DOI:10.1016/j.jddst.2021.102821
6. Randles J.E.B. (1948) A cathode-ray polarograph. Part II - The current-voltage curves. Trans Faraday Soc., **44**, 327.
7. Sevcik A. (1948) Oscillographic polarography with periodical triangular voltage. Collect Czech Chem Commun, **13**, 349.
8. Mohammadi A., Moghaddam A.B., Alikhani E., Eilkhazadeh K., Mozaffari S. (2013) Electrochemical quantification of fluoxetine in pharmaceutical formulation using carbon nanoparticles. Micro & Nano Letters, **8**, 853-857. DOI:10.1049/mnl.2013.0671
9. Ferapontova E.E. (2018) DNA Electrochemistry and Electrochemical Sensors for Nucleic Acids. Annual review of analytical chemistry, **11** (1), 197–218. DOI:10.1146/annurev-anchem-061417-125811
10. Kuzikov, A.V., Bulko, T.V., Koroleva, P.I., Masamrekh, R.A., Babkina, S.S., Gilep, A.A., Shumyantseva, V.V. (2020) Cytochrome P450 3A4 as enzyme for drug biotransformation: the role of sensor systems modifications in electrocatalysis and electroanalysis. Biomeditsinskaya Khimiya, **66** (1), 64-70. DOI:10.18097/PBMC202006601064
11. Shumyantseva, V.V., Sigolaeva, L.V., Agafonova, L.E., Bulko, T.V., Pergushov, D.V., Schacher, F.H., Archakov, A.I. (2015) Facilitated biosensing via direct electron transfer of myoglobin integrated into diblock copolymer/multi-walled carbon nanotube nanocomposites. J. Mater. Chem. B, **3**(27) 5467–5477. DOI:10.1039/c5tb00442j
12. Shumkov, A. A., Suprun, E. V., Shatinina, S. Z., Lisitsa, A. V., Shumyantseva, V. V., Archakov, A. I. (2013) Gold and Silver Nanoparticles for Electrochemical Detection of Cardiac Troponin I based on Striping Voltammetry. BioNanoScience, **2** (3), 216-222. DOI: 10.1007/s12668-013-0090-9
13. Nimal R., Unal D. N., Erkmen C., Bozal-Palabiyik B., Siddiq M., Eren G., Shah A., Uslu B. (2022) Development of the electrochemical, spectroscopic and molecular docking approaches toward the investigation of interaction between DNA and anti-leukemic drug azacytidine. Bioelectrochemistry, **146**, 108135,1567-5394. DOI:10.1016/j.bioelechem.2022.108135
14. Topkaya S.N., Kaya H.O., Cetin A.E. (2021) Electrochemical detection of linagliptin and its interaction with dna. Turkish J. Pharm. Sci., **18**, 645–651. 24 DOI:10.4274/tjps.galenos.2021.71354
15. Manzano M., Viezzi S., Mazerat S., Marks R.S., Vidic J. (2018) Rapid and label-free electrochemical DNA biosensor for detecting hepatitis A virus. Biosens. Bioelectron, **100**, 89–95. DOI:10.1016/J.BIOS.2017.08.043
16. Lavin, A., Vicente, J.D., Holgado, M., Laguna, M.F., Casquel, R., Santamaria, B., Maigler, M.V., Hernandez, A.L., Ramirez, Y. (2018) On the Determination of Uncertainty and Limit of Detection in Label-Free Biosensors. Sensors, **18**, 2038. DOI:10.3390/s18072038
17. Armbruster, D.A., Pry, T. (2008) Limit of blank, limit of detection and limit of quantitation. Clin.Biochem. Rev., **29**, S49–S52.
18. Bolat G. (2020) Investigation of poly(CTAB-MWCNTs) composite based electrochemical DNA biosensor and interaction study with anticancer drug Irinotecan. Microchemical Journal, **159**, 105426. DOI: 10.1016/j.microc.2020.105426
19. Hasanzadeh M., Shadjou N. (2016) Pharmacogenomic Study Using Bio- and Nanobioelectrochemistry: Drug–DNA Interaction. Mater. Sci. Eng. C, **61**, 1002–1017. DOI:10.1016/j.msec.2015.12.020
20. Acharya, M., Bernard, A., Gonzalez, M., Jiao, J., De Vries, R., Tran, N. (2012) Open-label, phase I, pharmacokinetic studies of abiraterone acetate in healthy men. Chemother.Pharmacol., **69**, 1583–1590. DOI: 10.1007/s00280-012-1865-3
21. Gurova K., (2009) New hopes from old drugs: revisiting DNA-binding small molecules as anticancer agents. Futur. Oncol., **5**, 1685. DOI:10.2217/FON.09.127.
22. Muti M. (2018) Electrochemical monitoring of the interaction between anticancer drug and DNA in the presence of antioxidant. Talanta., **178**, 1033–1039. DOI:10.1016/j.talanta.2017.08.089
23. Bagni G., Osella D., Sturchio E., Mascini M. (2006) Deoxyribonucleic acid (DNA) biosensors for environmental risk assessment and drug studies. Anal. Chim. Acta., **81–89**, 573-574. DOI:10.1016/j.aca.2006.03.085
24. Shumyantseva V.V., Bulko T.V., Tikhonova E.G., Sanzhakov M.A., Kuzikov A.V., Masamrekh R.A., Pergushov D.V., Schacher F.H., Sigolaeva L.V. (2021) Electrochemical studies of the interaction of rifampicin and nanosome/ rifampicin with dsDNA. Bioelectrochemistry, **140**, 107736. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2020.107736
25. Wani T.A., Alsaiif N., Bakheit A.H., Zargar S., Al-Mehizia A.A., Khan A.A. (2020) Interaction of an abiraterone with calf thymus DNA: Investigation with spectroscopic technique and modelling studies. Bioorg Chem., **100**, 103957. DOI:10.1016/j.bioorg.2020.103957
26. Nafisi S., Saboury A.A., Keramat N., Neault J.F., Tajmir-Riahi H.A. (2007) Stability and structural features of DNA intercalation with ethidium bromide, acridine orange and methylene blue. J. Mol. Struct., **827**, 35–43. DOI: 10.1016/j.molstruc.2006.05.004
27. Strajuddin M., Ali S., Badshah A. (2013) Drug–DNA interactions and their study by UV–vis, fluorescence spectroscopies and cyclic voltammetry. J. Photochem. Photobiol. B: Biol., **124**, 1–19. DOI:10.1016/j.jphotobiol.2013.03.013
28. DeDogan-Topal B., Bozal-Palabiyik B., Ozkan S.A., Uslu B. (2014) Investigation of anticancer drug lapatinib and its interaction with dsDNA by electrochemical and spectroscopic techniques. Sens. Actuators B Chem., **194** 185–194. DOI:10.1016/j.snb.2013.12.088
29. Temerk Y., Ibrahim M., Ibrahim H., Kotb M. (2016) Interactions of an anticancer drug lomustine with single and double stranded DNA at physiological conditions analysed by electrochemical and spectroscopic methods. J. Electroanal. Chem., **769**, 62–71. DOI:10.1016/j.jelechem.2016.03.020
30. Yazan Z., Bayraktape D.E., Dinç E. (2020) Four-way parallel factor analysis of voltammetric four-way dataset for monitoring the etoposide-DNA interaction with its binding constant determination. Bioelectrochemistry, **134**, 107525. DOI:10.1016/j.bioelechem.2020.107525
31. Chaires J.B., (2006) A thermodynamic signature for drug-DNA binding mode., Arch. Biochem. Biophys., **453**, 26–31. DOI:10.1016/J.ABB.2006.03.027

Поступила: 25.08.2022

После доработки: 07.09.2022

Принята к публикации: 09.09.2022

## ALGORITHMS FOR CALCULATION OF PARAMETERS OF ELECTROCHEMICAL BIOSENSOR

V.V. Shumyantseva<sup>1,2\*</sup>, V.V. Pronina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biomedical Chemistry, 10 Pogodinskaya Str., Moscow, 119121 Russia; \*e-mail: viktoria.shumyantseva@ibmc.msk.ru

<sup>2</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

The aim of this work is to present the experimental results in the form of an algorithm for analyzing the modification of screen printed electrodes, including the possibility of its regeneration for irreversibly oxidizing biologically active compounds (drugs, DNA and proteins). A protocol was developed for quantitative analysis and study of the mechanism of drug-DNA interaction by differential pulse voltammetry, including the following parameters: complex binding constant, Gibbs free energy, and electrochemical coefficients of the toxic effect.

**Key words:** electrochemical biosensor; electroactive electrode surface; binding constant; DNA analysis; pharmacogenomics

### FUNDING

The work was performed within the framework of the Program for Basic Research in the Russian Federation for a long-term period (2021-2030) (№122030100168-2).

Received: 25.08.2022, revised: 07.09.2022, accepted: 09.09.2022