

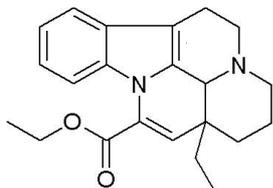
УДК 543.552:544.63

В.В.Варченко, К.Н.Беликов

ИНВЕРСИОННАЯ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЯ ВИНПОЦЕТИНА В ПРИСУТСТВИИ ИОНОВ Ag^+

Изучены электрохимические свойства винпоцетина на угольно-пастовых электродах в присутствии ионов Ag^+ . Установлено, что окисление происходит по СЕС-механизму с участием реакции комплексообразования, причем винпоцетин и его комплекс окисляются в близкой области потенциалов. Показано, что предварительное совместное электрохимическое накопление на электроде винпоцетина и серебра приводит к увеличению сигнала по сравнению с сигналом для винпоцетина в отсутствие серебра. Предел обнаружения винпоцетина составил $3 \cdot 10^{-8}$ М при концентрации ионов серебра $1.2 \cdot 10^{-4}$ М, диапазон линейности градуировочного графика — $1 \cdot 10^{-7}$ — $9 \cdot 10^{-6}$ М.

ВВЕДЕНИЕ. Винпоцетин (вр), этиловый эфир (3 α ,16 α)-эбурнаменин-14-карбоксиловой кислоты, является производным алкалоида винками-



на. Применяется при нарушениях мозгового кровообращения, атеросклерозе. Ранее [1] нами было изучено его электрохимическое поведение на угольно-пастовых электродах. Винпоцетин проявляет электрохимическую активность, однако чувствительность его определения на немодифицированных угольно-пастовых электродах недостаточна для анализа биологических жидкостей (предел обнаружения составляет $3 \cdot 10^{-6}$ М [1]). Поэтому актуальной проблемой является дополнительное улучшение характеристик вольт-амперометрического определения винпоцетина.

Известно, что совместное накопление некоторых металлов с органическими соединениями на поверхности электрода может повысить вольт-амперометрический сигнал последних [2—5]. Предварительные исследования показали, что наибольшее увеличение чувствительности наблюдается при совместном осаждении винпоцетина и серебра. Также было отмечено, что изменение вида вольтамперограмм свидетельствует о взаимодействии между ионами серебра и молекулами винпоцетина в растворе.

Вольтамперометрия позволяет получить цен-

ную информацию о кинетике и термодинамике подобных процессов. При этом существует несколько различных подходов к анализу электрохимических данных: сравнение с теоретическими критериями, что позволяет установить последовательность химических (С) и электрохимических (Е) стадий окисления/восстановления, а также их константы скорости [6—8]; наблюдение изменений в электрохимическом поведении системы после введения лиганда (“hard-modelling”) [9, 10]; хемометрический анализ вольтамперограмм (“soft-modelling”) [10—14].

Цель данной работы — изучение механизма комплексообразования винпоцетина с ионами серебра (как с предварительным накоплением веществ на электроде, так и без), а также оценка возможностей использования этих взаимодействий в аналитических целях.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ. Винпоцетин был предоставлен Украинским научным фармакопейным центром (Харьков). Раствор винпоцетина с концентрацией 2 г/л получали растворением навески вещества в 96 %-м этиловом спирте и хранили без доступа света при 4 °С. Использовали стандартный раствор нитрата серебра с массовой концентрацией ионов серебра 1 мг/мл (МСО 0348:2002). Рабочие растворы готовили каждый раз перед измерениями, разбавляя стандартные растворы фоновым электролитом. Универсальный буферный раствор (смесь борной, уксусной и ортофосфорной кислот (ос.ч.)) готовили так, чтобы концентрация каждой из кислот составляла 0.04 моль/л. Необходимое значение рН буферного раствора создавали добав-

лением раствора гидроксида натрия (Merck) с концентрацией 1 моль/л. Для всех водных растворов применяли деионизированную воду.

Трилолилфосфат (99 %, смесь изомеров, ABCR) и угольный порошок для спектрального анализа (Мега Сиб Групп, Киев) использовали для приготовления электродов.

Все вольт-амперометрические измерения проведены на вольт-амперометрическом анализаторе 797VA-CompuTrace (Metrohm, Швейцария) с программным обеспечением версии 1.3. Применяли трехэлектродную ячейку, состоящую из угольно-пастового рабочего электрода, хлорсеребряного электрода сравнения и платинового вспомогательного электрода. Фоновым электролитом служил универсальный буферный раствор с необходимым значением рН. В ячейку с помощью пипетки вносили 10 мл буферного раствора, продували азотом в течение 120 с. Затем микропипеткой добавляли необходимые объемы растворов винпоцетина и серебра. Вольтамперограммы записывали в двух различных режимах — циклическом и дифференциально-импульсном (амплитуда импульса — 0.09 В; время импульса — 0.01 с; скорость развертки 0.02 В/с).

Угольный порошок для электродов подготавливали следующим образом. К навеске порошка массой около 1 г добавляли 10 мл 30 %-й перекиси водорода, тщательно перемешивали и оставляли на 12 ч. Затем порошок отфильтровывали, несколько раз промывали водой и высушивали при комнатной температуре.

Для приготовления угольно-пастового электрода определенное количество угольного порошка смешивали с трилолил фосфатом и растирали в ступке до пастообразного состояния. Соотношение угольный порошок : связующее вещество составляло 70:30 по массе. Полученной пастой заполняли полиэтиленовую трубку с внутренним диаметром 3 мм, а в качестве токосъемника использовали серебряную проволоку, которую вставляли в пасту. Для очищения поверхности электрода небольшой слой пасты выдавливали из трубки и срезали, а поверхность шлифовали фильтровальной бумагой.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ. На циклических вольтамперограммах винпоцетина наблюдается только один пик А1 при потенциале 1.2 В (рис. 1, а), что свидетельствует о необратимости процесса [1]. В присутствии ионов Ag^+ по-

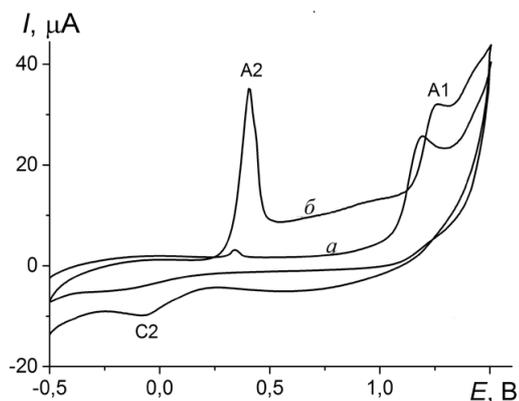


Рис. 1. Циклические вольтамперограммы винпоцетина в отсутствие (а) и в присутствии ионов серебра (б): $c(\text{vp}) = 1.1 \cdot 10^{-4}$, $c(\text{Ag}^+) = 2.0 \cdot 10^{-4}$ М.

тенциал пика А1 смещается в сторону положительных потенциалов. Кроме того, появляется пара пиков А2/С2, соответствующая окислительно-восстановительной паре Ag/Ag^+ (рис. 1, б) [15].

Введение ионов серебра концентрацией $5 \cdot 10^{-5}$ М к раствору, содержащему винпоцетин ($1 \cdot 10^{-4}$ М), приводит к уменьшению высоты пика, а его потенциал смещается в анодном направлении. При увеличении концентрации ионов серебра до $2 \cdot 10^{-4}$ М высота пика А1 начинает возрастать, а потенциал продолжает смещаться к более высоким положительным значениям (рис. 2).

С ростом концентрации винпоцетина при постоянной концентрации ионов серебра потенциал пика А2 смещается в катодном направлении, а сила тока уменьшается. С увеличением скорости развертки потенциал пика А1 смещается в анодном направлении, а его высота возрастает.

Из литературных данных известно о взаимодействии ионов серебра с ненасыщенными соединениями, содержащими двойную и тройную связи [16, 17] или алифатический атом азота [18]. В молекуле винпоцетина имеются двойные связи и третичный атом азота, что свидетельствует о возможности его взаимодействия с ионами серебра. Таким образом, в растворе могут сосуществовать свободный винпоцетин и его комплекс с серебром. Наличие только одного пика на вольтамперограммах может объясняться как близостью окислительно-восстановительных потенциалов винпоцетина и его комплекса, так и электролабильностью комплекса (за время измерения в диффузионном слое происходит быстрая ассоциация/диссоциация частиц).

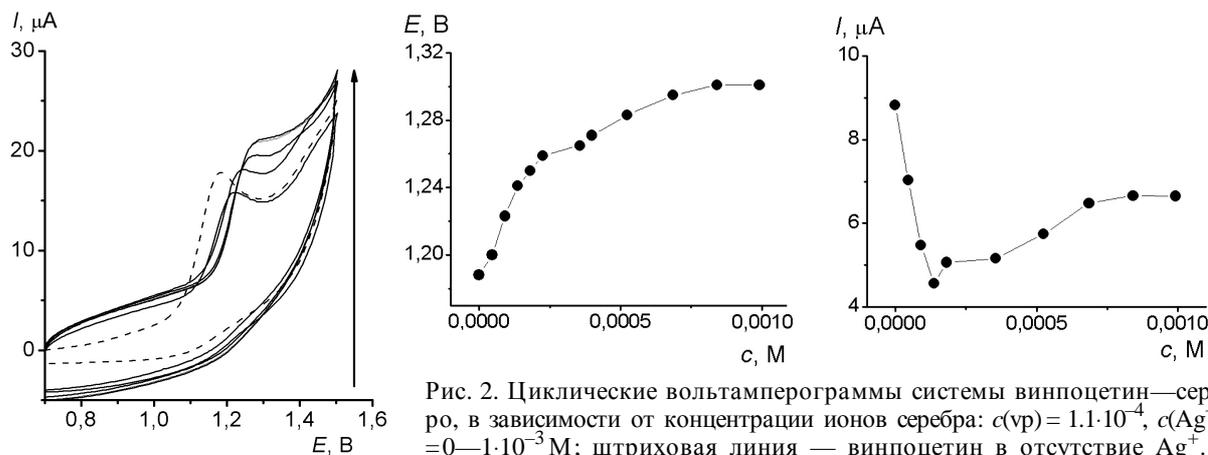
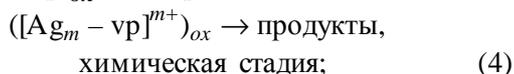
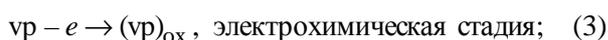
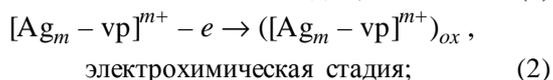
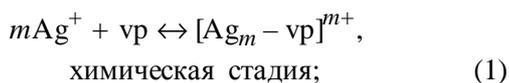


Рис. 2. Циклические вольтамперограммы системы винпоцетин—серебро, в зависимости от концентрации ионов серебра: $c(vp) = 1.1 \cdot 10^{-4}$, $c(Ag^+) = 0—1 \cdot 10^{-3}$ М; штриховая линия — винпоцетин в отсутствие Ag^+ .

Электрохимическое окисление несвязанного в комплекс винпоцетина происходит, вероятнее всего, по атому азота и осложнено последующей химической реакцией [1].

Моделирование окисления винпоцетина в присутствии ионов серебра и сравнение с экспериментальными данными проводили следующим образом. Учитывая полученные экспериментальные данные, происходящие процессы можно представить так:

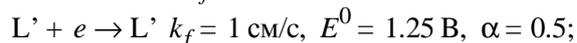
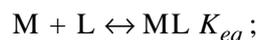


(индекс “ox” — окисленная форма винпоцетина или его комплекса с серебром).

Вначале происходит химическая реакция (1), затем электрохимическая ((2), (3)) и снова химическая ((4), (5)). Наиболее точно подобную систему описывает СЕС-модель для двух электроактивных частиц с близкими потенциалами окисления (в случае электроинертного комплекса, который не претерпевает превращений в диффузионном слое за время измерения). В случае электролабильного комплекса происходящие на электродах процессы можно условно представить как окисление свободного винпоцетина и

винпоцетина, поступающего в результате диссоциации комплекса.

В отличие от СЕ- и ЕС-механизмов, которые хорошо описаны в литературе, СЕС-механизм упоминается лишь в нескольких работах [7, 19–21]. Нами было выполнено моделирование СЕС-механизма для уравнений (1)–(5) с помощью программы DigiElch 4.0. Модель можно представить следующими уравнениями:



. Полученные результаты приведены в таблице. Значение K_{irr} выбрано таким образом, чтобы вторая химическая реакция была необратима при всех исследуемых скоростях развертки; K_{eq} для первой химической реакции достаточно высокое (>100 [22]) и соответствует диффузионно-контролируемому электродному процессу.

В рамках СЕС-модели для двух электроактивных частиц (в близкой области потенциалов) при низких скоростях развертки равновесие устанавливается и вклад в аналитический сигнал вносят оба электроактивных компонента. При высоких скоростях развертки, аналогично обычному СЕС-процессу, равновесие не успевает устанавливаться и ток уменьшается (рис. 3).

При низких значениях K_{eq} концентрация комплекса очень маленькая, вклад дает только не-

Модельные характеристики СЕС-механизма

Параметр, условия	Наблюдаемый эффект
Скорость развертки, v , $K_{eq} = 2000$	С увеличением скорости развертки потенциал пика смещается в сторону более высоких значений
Концентрация реагентов, $c = 10^{-4} - 10^{-2}$ М, $K_{eq} = 2000$	С ростом концентрации потенциал пика смещается в сторону более высоких значений
Соотношение концентраций, $Z = c(M)/c(L)$, $K_{eq} = 2000$	При низких и при высоких значениях является величиной постоянной, с увеличением Z потенциал пика смещается в сторону более высоких значений; сила тока проходит через минимум
$K_{eq} = 2 \cdot 10^{-3} - 2 \cdot 10^{10}$	При низких значениях K потенциал пика не смещается, а затем резко начинает возрастать, сила тока проходит через минимум
$I/v^{1/2}$ от v	Рис. 3

Примечание. М — металл; L — лиганд; P — продукт; K — константа равновесия химической реакции; *irr* — необратимый процесс, *eq* — обратимый; k_f — константа скорости переноса электрона; E^0 — стандартный окислительно-восстановительный потенциал; α — коэффициент переноса электрона.

связанный винпоцетин, поэтому потенциал пика не смещается. С увеличением K_{eq} концентрация комплекса увеличивается, что приводит к изменению потенциала.

С увеличением концентрации Ag^+ и соотношения $c(Ag^+)/c(vp)$ потенциал пика А1 смещается в сторону более высоких значений (таблица, рис. 2). Высота сигнала уменьшается при переходе от чистого винпоцетина к системе винпоцетин—серебро, а затем начинает возрастать с увеличением концентрации серебра (рис. 3).

На рис. 4 представлены нормированные циклические вольтамперограммы для системы вин-

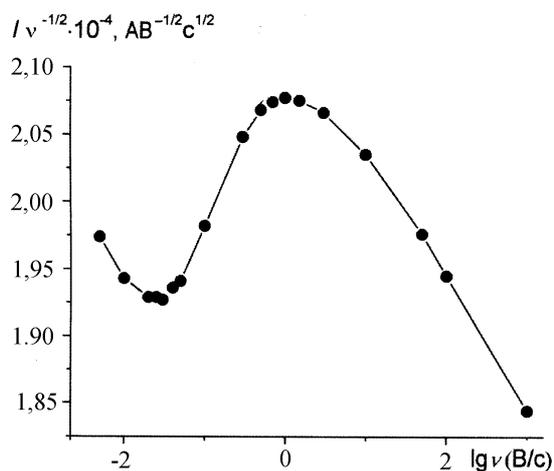


Рис. 3. Зависимость $I/v^{1/2}$ от $\lg v$.

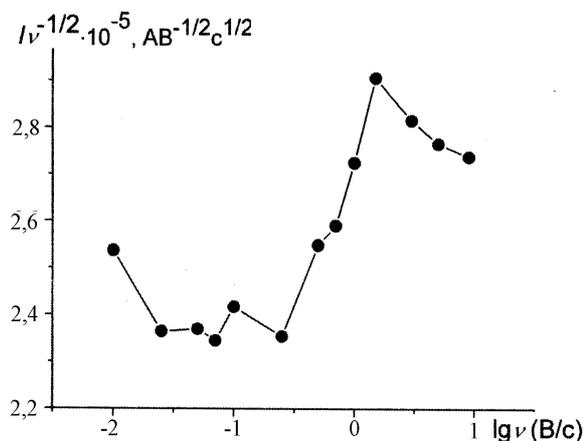


Рис. 4. Нормированные значения силы тока для системы винпоцетин—серебро при различных скоростях развертки (от 0,01 до 9 В/с), $c(vp) = 1,1 \cdot 10^{-4}$ М, $c(Ag^+) = 3,2 \cdot 10^{-4}$ М.

поцетин—серебро. Потенциал пика смещается в сторону более высоких значений с увеличением v . Для системы винпоцетин—серебро зависимость $\lg I$ от $\lg v$ линейна с наклоном 0,5, что указывает на диффузионный характер процесса. С увеличением скорости развертки функция $I/v^{1/2}$ уменьшается, затем увеличивается, а при скоростях выше 1 В/с снова уменьшается.

Следовательно, результаты моделирования соответствуют экспериментальным данным, что подтверждает СЕС-механизм.

Винпоцетин является слабым основанием и в водной среде протонируется по алифатическому атому азота, $\lg K_H$ составляет 7.69 [23]. Влияние pH раствора на потенциал и высоту пика A1 показано на рис. 5.

Высота пика увеличивается с увеличением pH как для винпоцетина, так и для винпоцетина в присутствии серебра. Потенциал пика уменьшается с увеличением pH для винпоцетина на всем исследуемом интервале, а для винпоцетина в присутствии ионов серебра — для pH выше 3. При pH 2 высота пика винпоцетина и его потенциал одинаковы и в присутствии ионов серебра, и без них. Кроме того, при pH 2 при добавлении винпоцетина к раствору, содержащему серебро, не наблюдается уменьшение высоты пика A2,

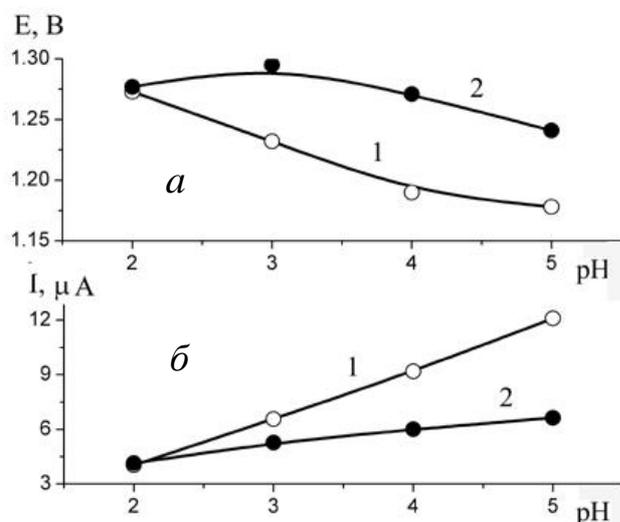


Рис. 5. Влияние pH раствора на потенциал (а) и высоту пика (б) для винпоцетина (1) и системы винпоцетин—серебро (2).

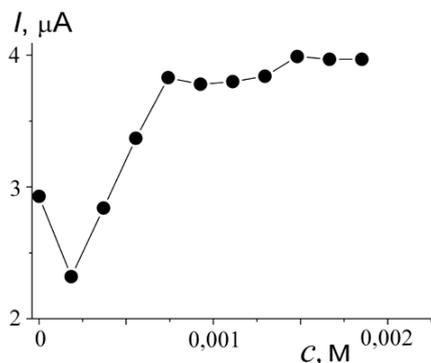


Рис. 6. Зависимость высоты пика A1 от концентрации ионов серебра после накопления.

как при более высоких pH. Следовательно, комплексообразование не происходит при pH около 2. Винпоцетин находится при этом значении pH преимущественно в протонированной форме и отсутствие комплексообразования может свидетельствовать о взаимодействии винпоцетина с ионами серебра по алифатическому атому азота.

Для изучения влияния предварительного электрохимического осаждения серебра осаждали при потенциале -0.2 В в течение 30 с из растворов, содержащих различные концентрации ионов серебра и $1 \cdot 10^{-5}$ М винпоцетина. При данном потенциале винпоцетин также накапливался на электроде. Зависимость тока пика A1 на инверсионных циклических вольтамперограммах от концентрации ионов серебра представлена на рис. 6.

Значения токов выше по сравнению с полученными без накопления, кроме того, высота пика A1 при высоких концентрациях серебра больше по сравнению с винпоцетином в случае использования предварительного накопления, в то время как при отсутствии накопления пик A1 всегда ниже, чем для винпоцетина в отсутствие серебра (рис. 2, б).

Для установления роли ионов серебра в растворе и серебра, осажденного на поверхности электрода, провели также следующие эксперименты. Винпоцетин накапливали на угольно-пастовом электроде в отсутствие серебра, а серебро вводили непосредственно перед измерениями. Во втором случае винпоцетин и ионы серебра вводили одновременно и накапливали на электроде совместно. В первом случае высота пика окисления комплекса на инверсионной дифференциальной импульсной вольтамперограмме в 1.6 раз ниже, чем во втором. При электрохимическом восстановлении на поверхности электрода избытка ионов Ag^+ образуются наноагрегаты металла, которые катализируют процесс окисления [24].

Поверхность электрода была исследована после осаждения серебра при потенциале -0.2 В в течение 30 с в отсутствие винпоцетина с помощью сканирующей электронной микроскопии. Наблюдалось образование частиц диаметром 50–100 нм (рис. 7).

Исследовано влияние времени и потенциала накопления на высоту сигнала. С увеличением времени накопления ток окисления на диф-

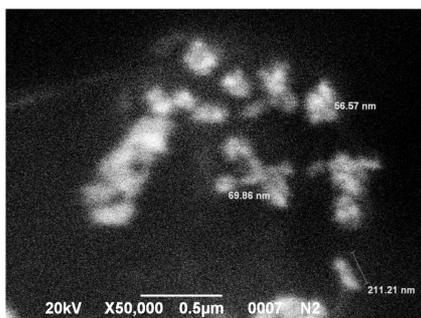


Рис. 7. Изображение поверхности угольно-пастового электрода после электрохимического осаждения серебра, полученное с помощью сканирующей электронной микроскопии.

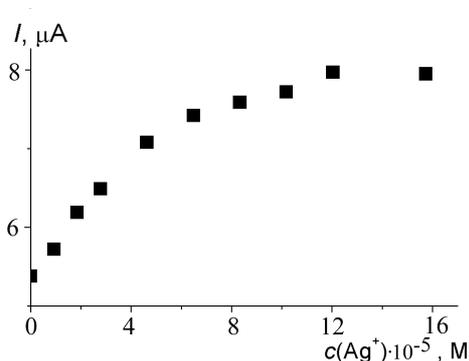


Рис. 8. Зависимость тока окисления А1 от концентрации ионов серебра.

ференциально-импульсных вольтамперограммах вначале возрастает, а при значениях больших, чем 90 с, достигает максимального постоянного значения. Потенциал накопления был выбран -0.2 В .

Влияние концентрации ионов Ag^+ на высоту пика А1 изучено с помощью дифференциально-импульсной вольтамперометрии. С возрастанием концентрации серебра высота увеличивается до $c(\text{Ag}^+)/c(\text{vp}) = 6$, а при дальнейшем росте концентрации остается практически постоянной (рис. 8).

Линейное возрастание сигнала А1 наблюдается в диапазоне концентраций винпоцетина $1 \cdot 10^{-7} - 9 \cdot 10^{-6} \text{ М}$ ($E_{\text{acc}} = -0.2 \text{ В}$, $t_{\text{acc}} = 30 \text{ с}$), предел обнаружения составляет $3 \cdot 10^{-8} \text{ М}$ ($E_{\text{acc}} = -0.2 \text{ В}$, $t_{\text{acc}} = 30 \text{ с}$). Концентрация ионов серебра составляла $1.2 \cdot 10^{-4} \text{ М}$, избыток создавали для смещения равновесия (1) вправо и осаждения на поверхности электрода наночастиц. Однако следует

обратить внимание на то, что введение серебра увеличивает фоновый ток и при слишком большой концентрации ток окисления может быть скрыт фоновым током.

ВЫВОДЫ. Установлено, что окисление винпоцетина в присутствии ионов Ag^+ происходит по СЕС-механизму, при этом винпоцетин и его комплекс с серебром окисляются в близкой области потенциалов. Найдены критерии СЕС-механизма, в котором две частицы электрохимически активны в близкой области потенциалов. Предварительное совместное электрохимическое накопление на электроде винпоцетина и серебра приводит к увеличению сигнала по сравнению с сигналом для винпоцетина. Предел обнаружения винпоцетина на угольно-пастовом электроде, который модифицирован электрохимически осажденным серебром, составляет $3 \cdot 10^{-8} \text{ М}$.

РЕЗЮМЕ. Вивчено електрохімічні властивості вінпоцетину на вугільно-пастових електродах у присутності іонів Ag^+ . Встановлено, що в цьому випадку окиснення відбувається відповідно до СЕС-механізму за участю реакції комплексоутворення, причому вінпоцетин та його комплекс окиснюються у близькій області потенціалів. Показано, що попереднє сумісне електрохімічне накопичення на електроді вінпоцетину і срібла приводить до збільшення сигналу в порівнянні з сигналом для вінпоцетину за відсутності срібла. Межа виявлення вінпоцетину складала $3 \cdot 10^{-8} \text{ М}$ при концентрації іонів срібла $1.2 \cdot 10^{-4} \text{ М}$, діапазон лінійності градувального графіка — $1 \cdot 10^{-7} - 9 \cdot 10^{-6} \text{ М}$.

SUMMARY. Electrochemical properties of vinpocetine in the presence of Ag^+ at carbon paste electrodes were studied. In this case oxidation was found to occur according to СЕС-mechanism comprising complex formation with vinpocetine and its complex oxidizing at similar potentials. Preliminary simultaneous accumulation of vinpocetine and silver at the electrode was shown to lead to the signal growth as compared with vinpocetine signal in absence of silver. The detection limit of vinpocetine was $3 \cdot 10^{-8} \text{ М}$ with silver ion concentration being $1.2 \cdot 10^{-4} \text{ М}$ and the linear working range was $1 \cdot 10^{-7} - 9 \cdot 10^{-6} \text{ М}$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Varchenko V.V., Bryleva E.Y., Belikov K.N., Kalchenko V.I. // J. Electrochem. Sos. -2014. -**161**, № 6. -P. G43—G47.
2. Househam B.C., Van den Berg C.M., Riley J.P. // Anal. Chim. Acta. -1987. -**200**. -P. 291—303.

3. *Le Gall A.-C., van den Berg C.M.G.* // *Analyst.* -1993. -**118**, № 11. -P. 1411.
4. *Forsman U.* // *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* -1980. -**111**, № 2-3. -P. 325—335.
5. *Forsman U.* // *Anal. Chim. Acta.* -1984. -**156**. -P. 43—49.
6. *Rafiee M., Nematollahi D.* // *Electrochim. Acta.* -2008. -**53**, № 6. -P. 2751—2756.
7. *Rafiee M., Nematollahi D., Salehzadeh H.* // *Ibid.* -2011. -**56**, № 27. -P. 9946—9952.
8. *Salehzadeh H., Nematollahi D.* // *Ibid.* -2013. -**111**. -P. 909—915.
9. *Crow D.R.* *Polarography of metal complexes.* - London; New York: Academ. Press, 1969.
10. *Diaz-Cruz M.S., Diaz-Cruz J.M., Mendieta J et al.* // *Anal. Biochem.* -2000. -**279**, № 2. -P. 189—201.
11. *Diaz-Cruz M., Mendieta J., Tauler R., Esteban M.* // *J. Inorg. Biochem.* -1997. -**66**, № 1. P. 29—36.
12. *Grabaric B.S., Grabaric Z., Tauler R. et al.* // *Anal. Chim. Acta.* -1997. -**341**, № 2-3. -P. 105—120.
13. *Torres M., Diaz-Cruz J.M., Arino C. et al.* // *Ibid.* -1998. -**371**, № 1. -P. 23—37.
14. *Diaz-Cruz J. M., Tauler R., Grabaric B.S. et al.* // *J. Electroanal. Chem.* -1995. -**393**, № 1-2. -P. 7—16.
15. *Singh P., Parent K.L., Buttry D.A.* // *J. Amer. Chem. Soc.* -2012. -**134**, № 12. -P. 5610—5617.
16. *Trueblood K.N., Lucas H.J.* // *Ibid.* -1952. -**74**, № 5. -P. 1338—1339.
17. *Dorsey W.S., Lucas H.J.* // *Ibid.* -1956. -**78**, № 8. -P. 1665—1669.
18. *Fleischmann M., Korinek K., Pletcher D.* // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2.* -1972. -№ 10. -P. 1396.
19. *Mellado J.M.R., Montoya M.R.* // *Electroanalysis.* -1994. -**6**, № 11-12. -P. 1132—1135.
20. *Mellado J.M.R., Montoya M.R.* // *J. Electroanal. Chem.* -1994. -**365**, № 1-2. -P. 71—78.
21. *Nekrassova O., Lawrence N.S., Compton R.G.* // *Electroanalysis.* -2003. -**15**, № 19. -P. 1501—1505.
22. *Lavagnini I., Antiochia R., Magno F.* // *Ibid.* -2004. -**16**, № 6. -P. 505—506.
23. *Mazak K., Nemes A., Noszal B.* // *Pharm. Res.* -1999. -**16**, № 11. -P. 1757—1763.
24. *Welch C.M., Compton R.G.* // *Anal. Bioanal. Chem.* -2006. -**384**, № 3. -P. 601—619.

НТК “Институт монокристаллов”
НАН Украины, Харьков

Поступила 17.04.2015