

DOI: 10.26896/1028-6861-2019-85-1-I-28-34

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛУТАТИОНА НА ЗОЛОТОУГЛЕРОДСОДЕРЖАЮЩЕМ ЭЛЕКТРОДЕ

© Анна Сергеевна Гашевская¹, Елена Владимировна Дорожко¹,
Елена Ивановна Короткова¹, Эльвира Александровна Пашковская²,
Олеся Александровна Воронова¹, Евгений Владимирович
Плотников¹, Ксения Владимировна Дёрнина¹,
Ольга Ивановна Липских¹

¹ Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск, Россия; e-mail: asg30@tpu.ru

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, Россия.

*Статья поступила 25 апреля 2018 г. Поступила после доработки 27 июля 2018 г.
Принята к публикации 25 ноября 2018 г.*

Глутатион (GSH), один из наиболее важных антиоксидантов тиоловой природы, участвующий в разных биохимических процессах в организме человека, в лабораторной практике необходимо определять как в биологических жидкостях (слюна, моча, сыворотка крови), так и фармацевтических препаратах. Для этого широко используют различные инструментальные методы анализа, такие как спектрофотометрия, флуориметрия, высокоэффективная жидкостная хроматография, ЯМР, капиллярный электрофорез и электрохимические методы. Последние характеризуются простотой реализации, невысокой стоимостью и возможностью миниатюризации приборной базы. Исследовано электрохимическое поведение восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона на золотоуглеродсодержащем электроде (AuУСЭ) методом катодной вольтамперометрии при разных способах удаления кислорода из электрохимической ячейки: деаэрация азотом и введение раствора сульфита натрия (4 моль/дм³). Установлено, что следы H₂O₂, которые остаются в приэлектродном слое на AuУСЭ даже после удаления кислорода, влияют на электрохимические свойства GSH при катодной развертке потенциала от 0 до –1,8 В: GSH окисляется H₂O₂ до GSSG, наиболее информативным продуктом этой реакции является O₂. Предложено косвенное определение GSH по току восстановления кислорода в среде Na₂SO₃ в диапазоне концентраций от 0,5 · 10^{–8} до 4,2 · 10^{–8} моль/дм³ с пределом обнаружения 2,5 · 10^{–9} моль/дм³. Предложенный вольтамперометрический способ апробирован при определении GSH в некоторых фармацевтических препаратах.

Ключевые слова: глутатион; вольтамперометрия; золотоуглеродсодержащий электрод; сульфит натрия; тиоловые соединения.

VOLTAMMETRIC METHOD FOR DETERMINATION OF GLUTATHIONE ON A GOLD-CARBON-CONTAINING ELECTRODE

© Anna S. Gashevskaya¹, Elena V. Dorozhko¹, Elena I. Korotkova¹,
Elvira A. Pashkovskaya², Olesya A. Voronova¹, Evgenii V. Plotnikov¹,
Ksenia V. Derina¹, Olga I. Lipskikh¹

¹ National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia; e-mail: asg30@tpu.ru.

² National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia.

Received April 25, 2018. Revised July 27, 2018. Accepted November 25, 2018.

Glutathione (GSH) is one of the most important thiol-containing antioxidants involved into various biochemical processes in the human body. Glutathione determination in biological fluids (saliva, urine, serum) and pharmaceutical preparations is rather important for clinical practice. Various analytical methods — spectrophotometry, fluorimetry, high-performance liquid chromatography, NMR spectroscopy, capillary electrophoresis and electrochemical methods — are widely used for this purpose. Electrochemical methods are characterized by easy implementation, low cost and possibility of miniaturization. The electrochemical behavior of reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione on a gold-carbon-containing electrode (AuCE) was studied using cathodic voltammetry with different methods of removing oxygen from an electrochemical cell: nitrogen sparging and addition of sodium sulfite (4 mol/dm³). It has been shown that traces of H₂O₂ that remain in the near-electrode layer on the AuCE even after oxygen removal influence the electrochemical properties of GSH at a cathode sweep of the potential from 0 to –1.8 V: GSH is oxidized by H₂O₂ to GSSG, the most important product of this reaction is O₂. An indirect determination

of GSH by the current of oxygen reduction in the Na_2SO_3 medium in the concentration range from 0.5×10^{-8} to 4.2×10^{-8} mol/dm³ with a detection limit of 2.5×10^{-9} mol/dm³ is proposed. The developed voltammetric method is approved for the determination of GSH in certain pharmaceutical preparations.

Keywords: glutathione; voltammetry; gold-carbon-containing electrode; sodium sulfite; thiol compounds.

Глутатион является наиболее распространенным и важным антиоксидантом тиоловой природы, участвующим в разных биохимических процессах в организме человека [1], клеточном гомеостазе [2], а также в защите клеток от действия перекисей и свободных радикалов [3, 4]. По этой причине он обычно используется в качестве стандартной модели при оценке окислительно-восстановительных процессов в организме человека [5, 6].

Известно, что уменьшение концентрации GSH может быть связано со старением и развитием ряда заболеваний, таких как мышечная дистрофия, болезнь Альцгеймера, синдром Вернера и др. [7 – 9].

В лабораторной практике важно определять GSH как в биологических жидкостях (слюна, моча и сыворотка крови человека), так и в фармацевтических препаратах. Методы, с помощью которых можно точно и селективно оценить содержание GSH, имеют решающее значение для понимания биохимических процессов с его участием. Для определения GSH наиболее широко используют инструментальные методы анализа, такие как спектрофотометрия [10], флуориметрия [11], капиллярный электрофорез [12], высокоэффективная жидкостная хроматография [13 – 15], ядерный магнитный резонанс [16].

Несмотря на то что в перечисленных методах определения GSH используются высокотехнологичные приборы и участие квалифицированного персонала, электрохимические методы нашли широкое применение для определения GSH в разных объектах благодаря простоте реализации, невысокой стоимости и возможности миниатюризации приборной базы. За последнее время электрохимические способы определения GSH на разных электродах методом вольтамперометрии были изучены группой проф. Р. Комптона [17, 18]. Мы провели литературный обзор публикаций по вольтамперометрическому определению GSH в разных объектах исследования от биологических жидкостей до фармацевтических препаратов за последние пять лет (табл. 1).

Из проведенного литературного обзора следует, что существуют прямые способы вольтамперометрического определения GSH с использованием электродов, в состав которых включены наночастицы металлов (Cu, Ag – ZnO, ZnO, Ru, Co, $\eta^5\text{-(C}_5\text{H}_5)_2\text{Fe}$ и др.) или красители, которые выполняют роль катализаторов электродного окисления GSH. Кроме того, в качестве электродных

модификаторов предложены углеродные нанотрубки, роль которых заключается в увеличении электроактивной площади поверхности электродов и участии микропримесей металлов и/или их оксидов в каталитическом окислении GSH. Зачастую способы модификации сложны и многостадийны, что не позволяет получить воспроизводимые аналитические сигналы GSH и влияет на результаты его определения в разных объектах при рутинном анализе.

Немало работ посвящено косвенным способам определения GSH методом вольтамперометрии, основанным на уменьшении сигналов медиаторов электронного переноса, например, катехола, *o*-хинона, поли(тионина), в реакции Фентона [17, 22, 28].

Из преимуществ косвенных способов определения GSH можно отметить простоту методов, доступность используемых реактивов при широком линейном динамическом диапазоне градуировочной зависимости для определения GSH в разных объектах анализа, а к недостаткам можно отнести мешающее влияние посторонних компонентов на токи медиаторов электронного переноса, что не позволяет применять данные способы для определения GSH в монокомпонентных объектах исследования.

В работе изучено электрохимическое поведение GSH и GSSG на AuYCE методом катодной вольтамперометрии при разных способах удаления кислорода из электрохимической ячейки: деаэрация азотом и введение раствора Na_2SO_3 . Цель исследования — разработка простой и экспрессной методики косвенного вольтамперометрического определения GSH по току восстановления O_2 в среде Na_2SO_3 на AuYCE и ее апробация с использованием некоторых фармацевтических препаратов.

Аппаратура и реактивы. Для исследования электрохимических свойств тиоловых соединений использовали следующие реактивы: серную кислоту (ГОСТ 4204–77, хч), сульфит натрия (ГОСТ 5644–75, хч), спирт этиловый очищенный 96 %-ный (ГОСТ Р 51723–2001, хч), *L*-глутатион 98 % (окисленный, восстановленный) (Sigma-Aldrich), *L*-цистеин 97 % (Sigma-Aldrich), цистин (Sigma-Aldrich), *DL*-метионин 99 % (Sigma-Aldrich), ($\pm$)- α -липоевую кислоту 99 % (Sigma-Aldrich), боратный буферный раствор pH 9,18 (стандарт-титр для приготовления образцовых буферных растворов для pH-метрии), хлорид калия (ГОСТ 4568–95, хч).

Эксперименты проводили с использованием вольтамперометрического анализатора TA-Lab и композитных электродов с обновляемой поверхностью (производства НПП «Томьаналит», г. Томск). Аналитические сигналы, регистрируемые на катодной вольтамперограмме в виде волны тока, преобразовывали в режиме первой производной $dI/dE - E$, в результате чего аналитические сигналы наблюдались в форме пиков.

Электрод в виде золотых микроэлектродных ансамблей на углеродсодержащей композитной

подложке (полиэтиленовая основа с распределенными в ней частицами технического углерода) готовили путем электролиза раствора золотохлороводородной кислоты ($0,005 \text{ моль/дм}^3$) в режиме электрохимического транзистента при скорости изменения потенциала 5 мВ/с в диапазоне от $-0,55$ до $+0,05 \text{ В}$ [30, 31]. Регенерацию AuУСЭ проводили путем срезания слоя композита ($1 - 2 \text{ мм}$) специальным резакком с последующим электрохимическим нанесением золота. На поверхности углеродсодержащей композитной подложки осаж-

Таблица 1. Вольтамперометрические способы определения GSH

Материал электрода/модификатор	Метод определения	Линейный динамический диапазон, моль/дм ³	Предел обнаружения, моль/дм ³	Объект исследования	Ссылка на литературный источник
Прямые способы определения глутатиона					
Графеновый электрод, модифицированный медью и кобальтом	Квадратно-волновая вольтамперометрия и ЦВА	$3,3 \cdot 10^{-7} - 5,5 \cdot 10^{-5}$	$2,5 \cdot 10^{-7}$	Образцы крови	[19]
Углеродный пастовый электрод, модифицированный углеродными нанотрубками в присутствии рутина	Квадратно-волновая вольтамперометрия и ЦВА	$5 \cdot 10^{-7} - 3 \cdot 10^{-4}$	$9 \cdot 10^{-8}$	Образцы крови, мочи, фармацевтические препараты	[20]
Углеродный пастовый электрод с углеродными нанотрубками и производными азотферроцена	ЦВА	$3 \cdot 10^{-7} - 3,35 \cdot 10^{-3}$	$8 \cdot 10^{-8}$	Образцы крови	[21]
Углеродный пастовый электрод, модифицированный наноккомпозитом ZnO/CNT/катехол	Квадратно-волновая вольтамперометрия	$2 \cdot 10^{-9} - 7,2 \cdot 10^{-4}$	$8 \cdot 10^{-10}$	Фармацевтические препараты, образцы мочи и крови	[22]
Углеродный пастовый электрод, модифицированный нанопластинами Ag/ZnO в присутствии триптофана	ЦВА	$5 \cdot 10^{-8} - 2 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-8}$	Фармацевтические препараты, образцы мочи	[23]
Углеродный пастовый электрод, модифицированный наноккомпозитом FePt/CNT/ <i>n</i> -(4-гидроксифенил)-3,5-динитробензамид	ЦВА	$4 \cdot 10^{-9} - 5,5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-9}$	Образцы крови, мочи, фармацевтические препараты	[24]
Углеродный пастовый электрод, модифицированный углеродными нанотрубками и бензоилферроценом	ЦВА	$1 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-8}$	Гемолизированные эритроциты, образцы мочи, фармацевтические препараты	[25]
Углеродный пастовый электрод, модифицированный углеродными нанотрубками с трихлоротерпиридинрутием (III)	ЦВА	$6 \cdot 10^{-7} - 5,8 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-7}$	Образцы крови и мочи	[26]
Углеродный пастовый электрод, модифицированный углеродными нанотрубками, включающий пирогаллоловый красный	Квадратно-волновая вольтамперометрия, ЦВА	$3 \cdot 10^{-7} - 5 \cdot 10^{-4}$	$1,9 \cdot 10^{-7}$	Образцы мочи	[27]
Косвенные способы определения глутатиона					
Углеродный пастовый электрод с поли(тионином) в качестве медиатора электронного переноса	Измерение токов медиатора методом ЦВА	$1 \cdot 10^{-8} - 1 \cdot 10^{-3}$	$2,5 \cdot 10^{-9}$	Образцы мочи, фармацевтические препараты	[28]
Углеродный пастовый электрод/ацетиленовая сажа	Измерение токов окисления медиатора — рутина методом ЦВА	$5 \cdot 10^{-7} - 2,5 \cdot 10^{-5}$	$8 \cdot 10^{-8}$	Фармацевтические образцы	[29]
Печатный графитовый электрод, модифицированный углеродными нанотрубками	Измерение токов окисления и восстановления медиатора — катехола методом квадратно-волновой вольтамперометрии	$1 \cdot 10^{-5} - 6 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-6}$	Образцы слюны	[17]

дались микрочастицы золота. Свойства и характеристики AuУСЭ описаны в литературных источниках [30, 32]. Данный способ приготовления электродов прост, воспроизводим, не требует применения дорогих технологий или специализированного оборудования.

Удаление кислорода проводили двумя способами: деаэрация азотом в течение 30 мин и внесение в ячейку ($V = 10 \text{ дм}^3$) раствора Na_2SO_3 (4 моль/дм³).

Фоновым электролитом служил боратный буферный раствор с $\text{pH} = 9,18$. В качестве вспомогательного и электрода сравнения использовали платиновый и хлоридсеребряный электроды соответственно. Контрольные эксперименты по нахождению оптимальной концентрации Na_2SO_3 (4 моль/дм³) для предотвращения роста тока кислорода в катодной области потенциалов включали введение в электрохимическую ячейку дистиллированной воды в объемах, соответствующих объемам растворов исследуемых тиоловых соединений.

При исследовании электрохимического поведения GSH и GSSG на AuУСЭ в диапазоне потенциалов от 0 до +1,8 В методом циклической вольтамперометрии было выявлено, что использование тока окисления GSH для его вольтамперометрического определения невозможно, что связано с наложением потенциалов пиков окисления GSH и образования оксида золота при потенциале +1,2 В. В данной области потенциалов GSSG оказался электрохимическим неактивным.

Поэтому все дальнейшие исследования с применением AuУСЭ проводили в катодной области потенциалов от 0 до -1,8 В.

Исследование вольтамперометрических свойств GSSG/GSH при удалении кислорода деаэрацией азотом. На рис. 1 представлены катодные вольтамперограммы GSSG в боратном буферном растворе ($\text{pH} 9,18$) при предварительном удалении кислорода из электрохимической ячейки деаэрацией азотом.

Зависимость тока восстановления GSSG от его концентрации линейна в диапазоне $0,4 \cdot 10^{-8} - 4,0 \cdot 10^{-8}$ моль/дм³:

$$y = 0,2071x + 1,1564 \quad (R^2 = 0,9986).$$

Необходимо отметить, что микрочастицы золота на AuУСЭ проявляют каталитическую активность в отношении восстановления кислорода, который восстанавливается до воды (см. рис. 1, кривая 1) в две стадии:

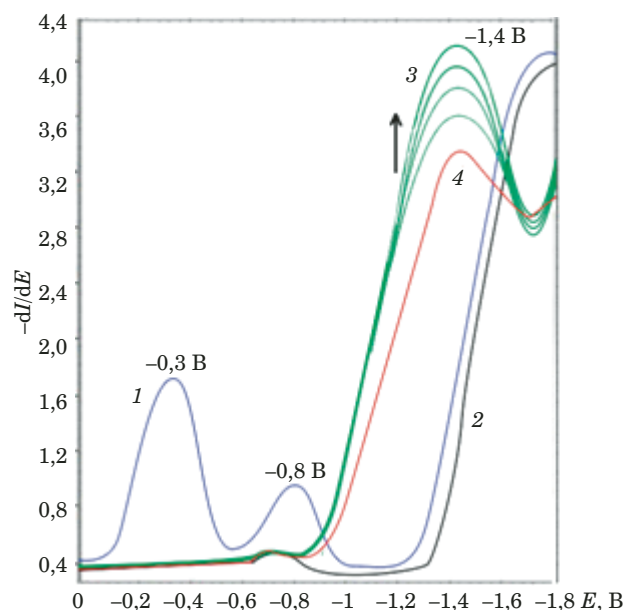
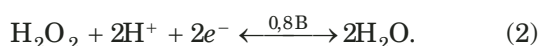
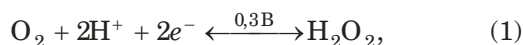
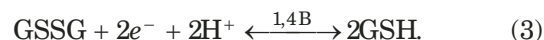


Рис. 1. Катодные вольтамперограммы GSSG на AuУСЭ: 1 — фоновый электролит (боратный буферный раствор $\text{pH} 9,18$); 2 — фоновый электролит после деаэрации азотом в течение 30 мин; 3 — в присутствии GSSG в разных концентрациях (от $0,4 \cdot 10^{-8}$ до $4,0 \cdot 10^{-8}$ моль/дм³); 4 — в присутствии GSH (эксперимент осуществляли отдельно при схожих условиях, что и для GSSG)

После деаэрации ячейки азотом с последующим введением раствора GSSG восстановление происходит при потенциале -1,4 В (см. рис. 1, кривые 3):



Ток восстановления GSSG увеличивался пропорционально его концентрации в ячейке (см. рис. 1, кривые 3).

Выявлено, что при введении в ячейку GSH появляется катодный пик (см. рис. 1, кривые 3), потенциал которого совпадает с потенциалом восстановления GSSG (-1,4 В), но значение тока не увеличивается при увеличении концентрации GSH.

На основании экспериментальных исследований и анализа литературных данных мы предположили, что существенную роль в образовании GSSG играет H_2O_2 , окисляющая GSH до дисульфида:



Кинетику окисления GSH перекисью водорода спектрофотометрическим методом изучали авторы работы [33] при разных исходных концентрационных соотношениях $[\text{GSH}]/[\text{H}_2\text{O}_2]$ (от 0,2 до 2,0): во всех исследованиях GSSG (90 %) является основным продуктом, образованным в результате окисления GSH перекисью водорода.

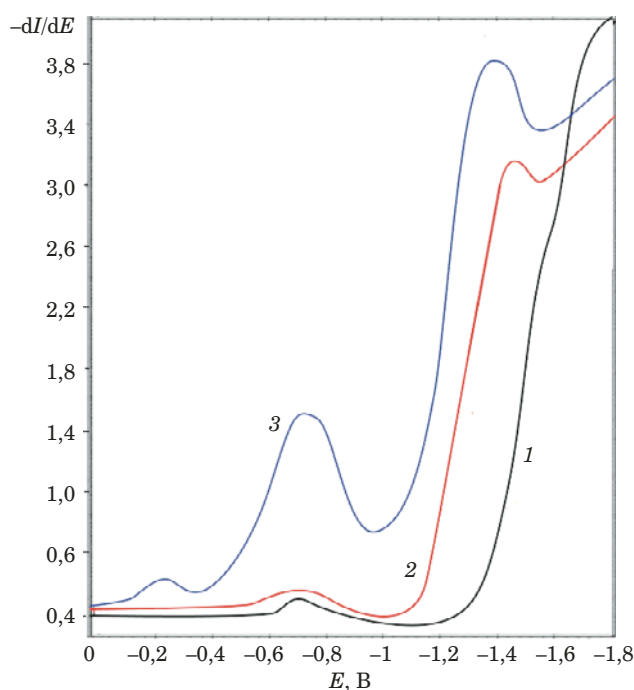


Рис. 2. Катодные вольтамперограммы GSH в отсутствие и в присутствии H_2O_2 : 1 — фоновый электролит (боратный буферный раствор pH 9,18) после деаэрации азотом в течение 30 мин; 2 — в присутствии GSH; 3 — в присутствии GSH ($4,2 \cdot 10^{-8}$ моль/дм³) и H_2O_2 ($1,0 \cdot 10^{-6}$ моль/дм³)

Промежуточный продукт — сульфеновая кислота (GSOH), которая окисляется до GSSG и O_2 :



При этом ток восстановления O_2 не наблюдается в катодной области из-за постоянной деаэрации электрохимической ячейки азотом, что приводит к вытеснению O_2 с поверхности электрода (см. рис. 1), тогда как волна восстановления GSSG наблюдается при потенциале $-1,4$ В.

Важность образования устойчивого продукта — GSOH при окислении GSH перекисью водорода оценена в работе [34]. При этом авторы утверждают, что окислительно-восстановительный баланс с участием антиоксиданта GSH фактически обеспечивается соотношением GSH/GSOH, а не GSH/GSSG, как сообщалось ранее [35].

Кроме того, на основании экспериментальных данных, представленных на рис. 2, можно отметить, что при введении избытка H_2O_2 по отношению к GSH происходит увеличение катодной волны GSSG при потенциале $-1,4$ В, что подтверждает увеличение выхода продукта реакции (6).

Причины образования H_2O_2 на поверхности индикаторного электрода могут быть разные. Во-первых, следы кислорода остаются на поверх-

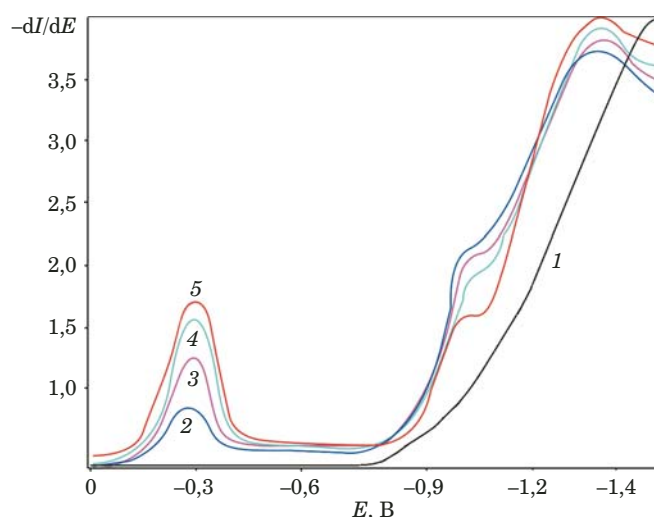


Рис. 3. Катодные вольтамперограммы GSH в среде Na_2SO_3 (4 моль/дм³): 1 — фоновый электролит (боратный буферный раствор pH 9,18); 2–5 — в присутствии GSH (от $0,5 \cdot 10^{-8}$ до $4,2 \cdot 10^{-8}$ моль/дм³)

ности AuУСЭ даже после деаэрации фонового электролита азотом в течение 30 мин, что непременно приведет к электрохимическому восстановлению кислорода до H_2O_2 (см. рис. 1, кривая 2). Во-вторых, введение GSH в ячейку впоследствии приведет к его адсорбции на микрочастицах золота индикаторного электрода с образованием самоорганизующихся монослоев. Известно, что на поверхности золотого электрода с адсорбированными тиоловыми соединениями восстановление O_2 идет с образованием H_2O_2 при участии двух электронов, в отличие от немодифицированного золотого электрода [36, 37].

Таким образом, GSSG восстанавливается при потенциале $-1,4$ В в боратном буферном растворе (pH 9,18) на AuУСЭ. Ток восстановления GSSG увеличивается пропорционально его концентрации в диапазоне от $0,4 \cdot 10^{-8}$ до $4,0 \cdot 10^{-8}$ моль/дм³.

Исследование вольтамперометрических свойств GSH при удалении кислорода раствором Na_2SO_3 (4 моль/дм³). При исследовании электрохимического поведения GSH и GSSG в среде Na_2SO_3 (4 моль/дм³), который использовали для удаления кислорода в ячейке в боратном буферном растворе (pH 9,18), наблюдали иной характер катодных вольтамперограмм GSH (рис. 3). При введении GSH в ячейку появлялись три катодные волны при потенциалах $-0,3$, $-1,0$ и $-1,4$ В. Сигнал восстановления кислорода при $-0,3$ В увеличивался в диапазоне концентраций GSH от $0,5 \cdot 10^{-8}$ до $4,2 \cdot 10^{-8}$ моль/дм³ ($y = 0,5959x + 0,4659$, $R^2 = 0,9984$).

Предположительно, данные явления обусловлены предшествующей реакцией связывания

GSH как антиоксиданта с H_2O_2 с последующим образованием дисульфидной формы GSSG и O_2 согласно уравнениям (5), (6). Кислород восстанавливается на AuУСЭ при потенциале $-0,3$ В, GSSG — при потенциале $-1,4$ В.

Согласно литературным данным Na_2SO_3 связывается с O_2 с образованием сульфата в серии радикальных процессов [38], что устраняет мешающее влияние растворенного кислорода в катодной области потенциалов при исследовании электрохимических свойств GSH. Суммарная реакция представлена уравнением:



Лишь в некоторых литературных источниках отмечено, что переходные металлы, в том числе золото, способны катализировать радикальные процессы с участием кислорода, в которых основными продуктами являются сульфат-ион и H_2O_2 [38 – 41]:



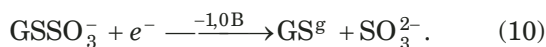
H_2O_2 связывается с GSH.

Несмотря на ожидаемый эффект удаления O_2 из приэлектродного слоя AuУСЭ с помощью Na_2SO_3 , был получен сигнал восстановления O_2 , который возрастал пропорционально концентрации GSH в ячейке. Данный эффект может быть использован для косвенного определения GSH.

Кроме того, Na_2SO_3 является сильным восстановителем, разрывает дисульфидные связи GSSG с образованием S-сульфоглутатиона по уравнению [42]:



Природу появления волны при потенциале $-1,0$ В можно объяснить восстановлением GSSO_3^- на AuУСЭ:



В работе проведены контрольные эксперименты по изучению электрохимических свойств других тиоловых соединений (цистеин, цистин, метионин, липоевая кислота) в среде Na_2SO_3 : ни одно из них, кроме GSH, не проявило вольтамперометрических свойств, подобных описанным выше.

Таким образом, возможно косвенное определение GSH по току восстановления O_2 в диапазоне концентраций от $0,5 \cdot 10^{-8}$ до $4,2 \cdot 10^{-8}$ моль/дм³ с пределом обнаружения $2,5 \cdot 10^{-9}$ моль/дм³.

Определение GSH в фармацевтических образцах. Определяли GSH в фармацевтических

Таблица 2. Результаты определения GSH в лекарственных препаратах ($n = 3$)

Объект исследования	Найдено, мг/таблетка	Заявлено производителем, мг/таблетка	$\pm \Delta$, %
Таблетки «Glutathione»	498,8	500,0	$\pm 2,5$
Таблетки «Ацетил-Глутатион»	101,3	100,0	$\pm 1,3$

препаратах при следующих условиях: катодная область регистрации сигнала при потенциале $-0,3$ В, $W = 100$ мВ/с, боратный буферный раствор ($\text{pH} = 9,18$) в среде Na_2SO_3 (4 моль/дм³).

Объектами анализа являлись лекарственные препараты — таблетки «Glutathione» (NOW Foods, США) и «Ацетил-Глутатион» (NutriCology, США), содержащие GSH. Так как в состав таблеток входят витамины группы В6, проведены предварительные исследования по мешающему влиянию витаминов на определение GSH. Витамины группы В6 были взяты в 300-кратном избытке по отношению к GSH. Установлено, что данные компоненты не изменяли величину тока при потенциале $-0,3$ В более или менее чем на ± 3 %, что не оказывало существенного влияния на результаты определения GSH. Результаты определения GSH представлены в табл. 2.

Таким образом, в работе исследовано электрохимическое поведение GSH/GSSG на AuУСЭ методом катодной вольтамперометрии.

Установлено, что следы H_2O_2 , которые остаются в приэлектродном слое на AuУСЭ даже после удаления кислорода, влияют на электрохимические свойства GSH при катодной развертке потенциалов от 0 до $-1,8$ В: GSH окисляется H_2O_2 до GSSG. Наиболее информативным продуктом реакции окисления GSH следами H_2O_2 является O_2 . Предложен косвенный способ определения GSH в фармацевтических образцах на AuУСЭ методом катодной вольтамперометрии.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

- Galli F., Rossi R., Floridi A., Canestrari F. Protein thiols and glutathione influence the nitric oxide-dependent regulation of the red blood cell metabolism / Nitric Oxide Biol. Chem. 2002. Vol. 6. P. 186 – 199.
- Dickinson D. A., Forman H. J. Cellular glutathione and thiols metabolism / Biochem. Pharmacol. 2002. Vol. 64. P. 1019 – 1026.
- Hassan M. Q., Hadi R. A., Al-Rawi Z. S., et al. The glutathione defense system in the pathogenesis of rheumatoid arthritis / J. Appl. Toxicol. 2001. Vol. 21. N 1. P. 69 – 73.
- Watanabe K., Guengerich F. P. Limited Reactivity of Formyl Chloride with Glutathione and Relevance to Metabolism and Toxicity of Dichloromethane / Chem. Res. Toxicol. 2016. Vol. 19. P. 1091 – 1096.
- Samiec P., Botsch C. D., Flagg E. W., Kurtz J. C. Glutathione in human plasma: decline in association with aging, age related macular degeneration, and diabetes / Free Radical Biol. Med. 1998. Vol. 24. P. 699 – 704.

6. **Weber G. F.** Final common pathways in neurodegenerative diseases: regulatory role of the glutathione cycle / *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1999. Vol. 23. P. 1079 – 1086.
7. **Gu F., Chauhan V., Chauhan A.** Glutathione redox imbalance in brain disorders / *Curr. Opin. Clin. Nutr.* 2015. Vol. 18. P. 89 – 95.
8. **Plotnikov E., Korotkova E., Voronova O., et al.** Comparative investigation of antioxidant activity of human serum blood by amperometric, voltammetric and chemiluminescent methods / *Arch. Med. Sci.* 2016. Vol. 12. N 5. P. 1071 – 1076.
9. **Korotkova E., Bashkim Misini, Dorozhko E., et al.** Study of OH[•] Radicals in Human Serum Blood of Healthy Individuals and Those with Pathological Schizophrenia / *Int. J. Mol. Sci.* 2011. Vol. 12. N 1. P. 401 – 409.
10. **Hormozi-Nezhad M. R., Seyedhosseini E., Robatjazi H.** Spectrophotometric determination of glutathione and cysteine based on aggregation of colloidal gold nanoparticles / *Scientia Iranica.* 2014. Vol. 19. N 3. P. 958 – 963.
11. **Hepel M., Stobiecka M.** Comparative kinetic model of fluorescence enhancement in selective binding of monochlorobimane to glutathione / *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry.* 2011. Vol. 225. N 1. P. 72 – 80.
12. **Markina M., Lebedeva E., Neudachina L., et al.** Determination of Antioxidants in Human Skin by Capillary Zone Electrophoresis and Potentiometry / *Anal. Lett.* 2016. Vol. 49. N 12. P. 1804 – 1815.
13. **Pastore A., Massoud R., Motti G., et al.** Fully automated assay for total homocysteine, cysteine, cysteinylglycine, glutathione, cysteamine, and 2-mercaptopyrionylglycine in plasma and urine / *Clinical Chem.* 1998. Vol. 44. N 4. P. 825 – 832.
14. **Tsikis D., Brunner G.** High-performance liquid chromatography of glutathione conjugates / *Anal. Bioanal. Chem.* 1992. Vol. 343. N 3. P. 330 – 334.
15. **Salazar J. F., Schorr H., Herrmann W., et al.** Measurement of thiols in human plasma using liquid chromatography with precolumn derivatization and fluorescence detection / *J. Chromatogr. Sci.* 1999. Vol. 37. N 12. P. 469 – 476.
16. **Rae C. D., Williams S. R.** Glutathione in the human brain: Review of its roles and measurement by magnetic resonance spectroscopy / *Anal. Biochem.* 2017. Vol. 529. P. 127 – 143.
17. **Lee P. T., Goncalves L. M., Compton R. G.** Electrochemical determination of free and total glutathione in human saliva samples / *Sens. Actu.* 2015. Vol. 221. P. 962 – 968.
18. **Harfield J. C., Batchelor-McAuley C., Compton R. G.** Electrochemical determination of glutathione: a review / *Analyst.* 2012. Vol. 137. P. 2285 – 2296.
19. **Hassanvand Z., Jalali F.** Electrochemical Determination of Glutathione Using Transition Metal Hexacyanoferrates (MHCFs) of Copper and Cobalt Electrode Posited on Graphene Oxide Nanosheets / *Anal. Bioanal. Chem. Res.* 2018. Vol. 5. N 1. P. 115 – 129.
20. **Hassan Karimi-Maleh, Mohsen Keyvanfard, Kadijeh Alizad, et al.** Electrochemical Determination of Glutathione Using Multiwall Carbon Nanotubes Paste Electrode as a Sensor and Isoprenaline as a Mediator / *Int. J. Electrochem. Sci.* 2012. Vol. 7. P. 6816 – 6830.
21. **Masoumeh Taei, Xasan Hadadzadeh, Foroozan Hassanpour.** A Voltammetric Sensor Based on Multiwalled Carbon Nanotubes and a New Azoferrocene Derivative for Determination of Glutathione / *Sensors J.* 2015. Vol. 15. N 8. P. 4472 – 4479.
22. **Hassan Karimi-Maleh, Fahimeh Tahernejad-Javazmi, Vinod Kumar Gupta, et al.** A novel biosensor for liquid phase determination of glutathione and amoxicillin in biological and pharmaceutical samples using a ZnO/CNTs nanocomposite/catechol derivative modified electrode / *J. of Mol. Liquids.* 2014. Vol. 196. P. 258 – 263.
23. **Hadi Beitollahi, Abbas Gholami, Mohammad Reza Ganjali.** Preparation, characterization and electrochemical application of Ag-ZnO nanoplates for voltammetric determination of glutathione and tryptophan using modified carbon paste electrode / *Mater. Sci. Eng. C.* 2015. Vol. 57. P. 107 – 112.
24. **Hassan Karimi-Maleh, Fahimeh Tahernejad-Javazmi, Ali A. Ensafi, et al.** A high sensitive biosensor based on FePt/CNTs nanocomposite /N-(4-hydroxyphenyl)-3,5-dinitrobenzamide modified carbon paste electrode for simultaneous determination of glutathione and piroxicam / *Biosens. Bioelectron.* 2014. Vol. 60. P. 1 – 7.
25. **Hossein Soltani, Hadi Beitollahi, A.-H. Hatefi-Mehrjardi, Masoud Torkzadeh-Mahani.** Voltammetric Determination of Glutathione Using a Modified Single Walled Carbon Nanotubes Paste Electrode / *Anal. Bioanal. Electrochem.* 2014. Vol. 6. N 1. P. 67 – 79.
26. **Behzad Rezaei, Hossein Khosropour, Ali Asghar Ensafi, et al.** A Differential Pulse Voltammetric Sensor for Determination of Glutathione in Real Samples Using a Trichloro(terpyridine)ruthenium (III)/Multiwall Carbon Nanotubes Modified Paste Electrode / *Sensors J.* 2015. Vol. 15. N 1. P. 483 – 490.
27. **Mohsen Keyvanfard, Khadijeh Alizad.** A Sensitive Voltammetric Sensor for Determination of Glutathione Based on Multiwall Carbon Nanotubes Paste Electrode Incorporating Pyrogallol Red / *Orientl Journl Chem.* 2014. Vol. 30. N 2. P. 593 – 599.
28. **Liu B., Ma C., Li Y., et al.** Voltammetric determination of reduced glutathione using poly(thionine) as a mediator in the presence of Fenton-type reaction / *Talanta.* 2017. Vol. 170. P. 399 – 405.
29. **Ying Huang, Huijie Yan, Yuejin Tong.** Electrocatalytic determination of Reduced Glutathione using rutin as a mediator at acetylene black spiked carbon paste electrode / *J. Electroanal. Chem.* 2015. Vol. 743. P. 25 – 30.
30. **Noskova G. N., Zakharova E. A., Chernov V. I., et al.** Properties and application of gold-carbon composite electrodes in electrochemical analysis methods / *Izv. Tomsk. Politekh. Univ. Inzh. Georesurs.* 2012. Vol. 320. N 3. P. 109 – 115 [in Russian].
31. **Zakharova E. A., Noskova G. N., Elesova E. E., Antonova S. G.** Determination of arsenic (V) in waters by the method of inversion voltammetry against the background of sodium sulfite in the presence of manganese (II) ions / *Zavod. Lab. Diagn. Mater.* 2012. Vol. 79. N 5. P. 17 – 23 [in Russian].
32. **Zakharova E. A., Antonova S. G., Noskova G. N., Skvortsova L. N., Te A. V.** Methods of the determination of inorganic arsenic species by stripping voltammetry in weakly alkaline media / *J. Anal. Chem.* 2016. Vol. 71. N 8. P. 823 – 833.
33. **Abedinzadeh Z., Gardes-Albert M., Ferradini C.** Kinetic study of the oxidation mechanism of glutathione by hydrogen peroxide in neutral aqueous medium / *Can. J. Chem.* 1989. Vol. 67. N 7. P. 1247 – 1255.
34. **Shinichi Enami, Hoffmann M. R., Colussi A. J.** OH-Radical Specific Addition to Glutathione S-Atom at the Air-Water Interface: Relevance to the Redox Balance of the Lung Epithelial Lining Fluid / *J. Phys. Chem. Lett.* 2015. Vol. 6. N 19. P. 3935 – 3943.
35. **Flohe L.** The fairytale of the GSSG/GSH redox potential / *Biochim. Biophys. Acta.* 2013. Vol. 1830. N 5. P. 3139 – 3142.
36. **Pisoschi A. M.** Electroanalytical Techniques for the Determination of Sulphite Preservative: An Editorial / *Biochem. Anal. Biochem.* 2014. Vol. 3. P. 32 – 34.
37. **Mohamed S. El-Deab, Takeo Ohsaka.** Quasi-reversible two-electron reduction of oxygen at gold electrodes modified with a self-assembled submonolayer of cysteine / *Electrochem. Comm.* 2013. Vol. 5. N 3. P. 214 – 219.
38. **Erling Skavas, Tor Hemmingsen.** Kinetics and mechanism of sulphite oxidation on a rotating platinum disc electrode in an alkaline solution / *Electrochim. Acta.* 2007. Vol. 52. P. 3510 – 3517.
39. **Senning A., ed.** Sulfur in organic and inorganic chemistry. Vol. 1 – 3. — NY: M. Dekker, 1972.
40. **Hayon E., Treinin A., Wilf J.** Electronic spectra, photochemistry, and autooxidation mechanism of the sulfite-bisulfite-pyrosulfite systems. SO₂^{•-}, SO₃^{•-}, SO₄^{•-}, and SO₅^{•-} — radicals / *J. Am. Chem. Soc.* 1972. Vol. 94. P. 47 – 57.
41. **Shi X.** Generation of SO₃^{•-} and OH radicals in SO₃²⁻ reactions with inorganic environmental pollutants and its implications to SO₃^{•-} toxicity / *J. Inorg. Biochem.* 1994. Vol. 56. P. 155 – 165.
42. **Yasemin Oztekin, Almira Ramanaviciene, Arunas Ramanavicius.** Electrochemical Glutathione Sensor Based on Electrochemically Deposited Poly-m-aminophenol / *Electroanalysis.* 2011. Vol. 23. N 3. P. 701 – 709.