

Oscar Bertran^{1,4}, Georgina Fabregat^{2,3,4},
Esther Córdova^{1,2,4}, Elaine Armelin^{2,3,4},
Carlos Alemán^{2,3,4}

¹Departamento de Física Aplicada, EUEII, Universitat Politècnica de Catalunya. ²Departament d'Enginyeria Química, ETSEIB, Universitat Politècnica de Catalunya. ³Centre for Research in NanoEngineering, Universitat Politècnica de Catalunya. ⁴Red de Referencia en Química Teórica y Computacional (XRQTC).

Avances tecnológicos en la detección de neurotransmisores

La combinación de los resultados que proporcionan los experimentos realizados en el laboratorio y el ordenador es una de las claves para conseguir avances científicos importantes en la investigación de la química aplicada del siglo XXI. En este trabajo se presenta, en síntesis, cómo la combinación de técnicas electroanalíticas y de simulación molecular ha permitido diseñar detectores de dopamina, un neurotransmisor que afecta a las funciones motoras y cognitivas, en concentraciones similares a las que se encuentran en las sinapsis neuronales.

El proceso científico tiene una estructura de crecimiento conocida cuya base reside en la experiencia práctica. Una experiencia bien realizada aporta la información necesaria para plantear unas buenas hipótesis, que se convertirán en leyes teóricas cuando no haya ninguna experiencia que las contradiga. A su vez, la aplicación de conceptos y leyes teóricas, combinados con el sentido común, proporciona modelos para llegar a conclusiones y avanzar en la estructura del conocimiento científico. De este modo, estos modelos permiten realizar predicciones que, a posteriori, pueden ser puestas a prueba a través de la experimentación u observación. Es en este contexto en el que la química computacional aporta una información inestimable. En este artículo se estudia la detección de la dopamina —un neurotransmisor relacionado con muchas enfermedades mentales— mediante polímeros conductores como un ejemplo de trabajo conjunto: las investigaciones en el laboratorio y el ordenador se han conjugado para avanzar en el conocimiento científico.

La dopamina fue descubierta en 1952 por Arvid Carlsson y Nils-Åke Hillarp [3]. En el año 2000, Carlsson fue galardonado con el Premio Nobel de Medicina al probar que la dopamina es un neurotransmisor. La

dopamina tiene muchas funciones en el cerebro, por lo que se necesita en un rango definido de concentraciones. Una disminución por debajo del umbral necesario comporta una reducción en la actividad motora, el comportamiento y la cognición, el sueño, la atención, el aprendizaje... Por ejemplo, la dopamina aparece al 50% de los niveles normales en personas con la enfermedad de Parkinson, sin embargo, un aumento por encima de los niveles máximos también provoca una disfunción en las actividades del cerebro: la esquizofrenia se asocia con un aumento en los niveles de dicho neurotransmisor.

La detección de dopamina en concentraciones relativamente pequeñas es hoy en día un tema de investigación importante en el ámbito en el que convergen la biomedicina, la biotecnología y los materiales. La concentración de este neurotransmisor en la sinapsis (zona en la que se produce la comunicación entre neuronas vecinas a través de los axones y dendritas) es de tan solo ~1.6 mM [14]. En este contexto, el uso de técnicas electroanalíticas, combinadas con materiales orgánicos conductores, como el poli(N-metilpirrol), al que nos referiremos de forma abreviada como PNMPy (ver esquema 1), han proporcionado buenos resultados para otros bioelementos [7, 8].

Técnicas electroanalíticas: voltametría cíclica

En la voltametría cíclica (VC) se aplica un barrido de potencial, tanto en sentido directo como inverso, al electrodo de trabajo sumergido en una disolución que contiene una especie electroactiva y se mide la intensidad eléctrica que circula por el electrodo. El potencial se varía linealmente desde E_0 hasta E_f . Cuando se ha alcanzado este último valor, el sentido de barrido se invierte y el potencial vuelve a su valor original E_0 . Los potenciales a los que tiene lugar la inversión, denominados “potenciales de cambio”, definen un intervalo en el que tiene lugar la oxidación o la reducción controlada por difusión de una o más especies.

La VC es extremadamente útil para estudiar las propiedades electroquímicas de un analito en disolución y, en consecuencia, para proceder a su detección. Una técnica habitual para incrementar la sensibilidad en la detección de analitos por VC consiste en la modificación del electrodo de trabajo para mejorar algunos aspectos, como la sensibilidad a la concentración de analito, la selectividad frente a otros analitos o la reversibilidad de la actividad redox. Para ello, se recubre por una película de un modificador químico que inhibe o promueve determina-

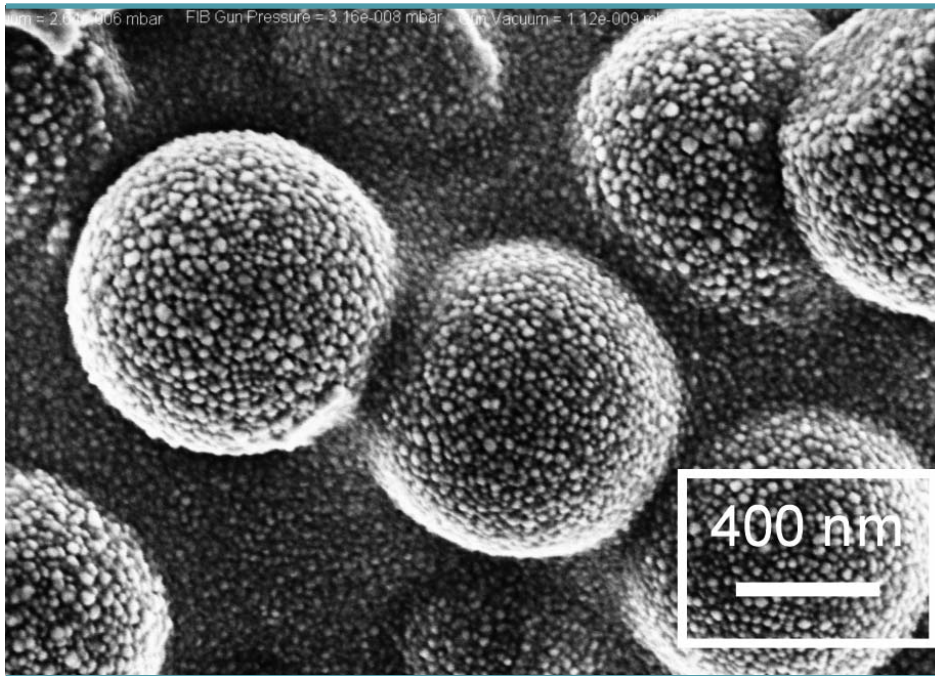


Figura 1. Micrografía obtenida mediante microscopía electrónica de barrido de las microesferas de PNMPy, empleadas para la detección electroanalítica de dopamina.

dos procesos electródicos el material del que está constituido el electrodo de trabajo (ace-ro, platino, oro, carbón vítreo, etcétera).

Simulación por ordenador

Las técnicas de simulación computacional basadas en la mecánica cuántica permiten crear modelos químicos de materiales diversos mediante la resolución de la ecuación de Schrödinger, la cual describe el comportamiento de los núcleos y los electrones de un sistema. En este trabajo se describen algunos de los resultados que hemos obtenido empleando técnicas de simulación para racionalizar observaciones experimentales relacionadas con la detección de dopamina. El objetivo de estos estudios ha sido doble: por un lado, en base a unos resultados experimentales iniciales, explorar la capacidad de interacción de distintos polímeros con este neurotransmisor y, por otro, comprender el significado de esta interacción a nivel molecular. Este esquema de trabajo ha permitido acortar de manera significativa la fase experimental del proyecto, lo cual pone de manifiesto el valor añadido que proporciona la conjunción de los resultados obtenidos en el ámbito experimental y computacional.

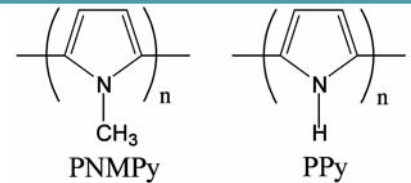
Electrodos modificados con microesferas de poli(N-metilpirrol)

Es bien conocido que el potencial de oxidación y la estabilidad ambiental del

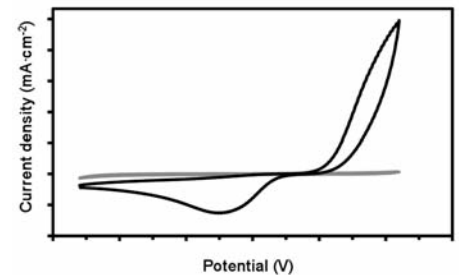
PNMPy es superior a las del polipirrol, abreviado PPy (ver esquema 1) [9]. Por ello se seleccionó este material como punto de partida para el diseño y optimización de nuevos sensores electroanalíticos de dopamina. Por otro lado, una de las características más importantes del PPy es la capacidad de este material para organizarse en forma de microesferas [4, 12]. Esto es particularmente relevante en el proceso de detección, ya que permite incrementar la superficie de contacto entre el detector y el analito en relación con sistemas convencionales que se organizan en películas regulares.

La preparación de microesferas de PNMPy se realizó usando microesferas sulfonadas de poliestireno (diámetro: 1.0 ± 0.3 μm) como molde, las cuales fueron introducidas en una disolución acuosa que contenía el monómero y un agente oxidante [13]. Este proceso permitió recubrir el molde de poliestireno de una capa de PNMPy de 30 nm de espesor. Finalmente, el poliestireno —soluble en tetrahidrofurano— se eliminó del sistema para evitar interferencias durante el proceso de detección [13]. Las microesferas de PNMPy, cuyo diámetro promedio viene determinado por las dimensiones del molde, se muestran en la figura 1.

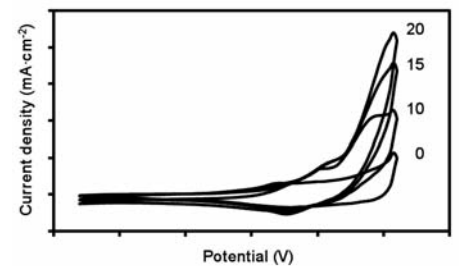
La detección de dopamina se ensayó usando electrodos de carbón vítreo modificados químicamente con este tipo de microestructuras poliméricas. La figura 2a



Esquema 1. Fórmula química del poli(N-metilpirrol) y el polipirrol.



a)

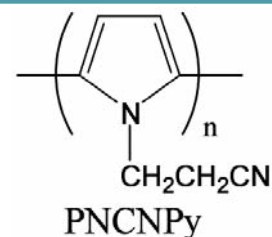
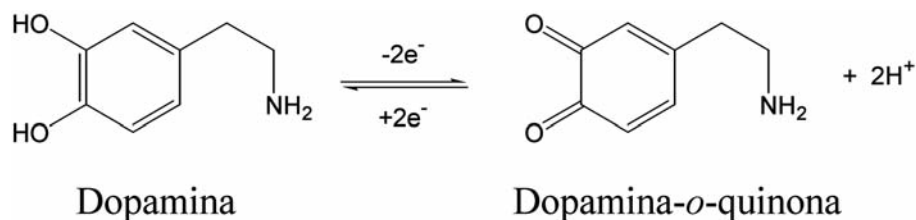


b)

Figura 2. Voltamogramas cíclicos de: (a) electrodo de carbón vítreo en presencia (curva negra) y ausencia (curva gris) de dopamina; y (b) electrodo de carbón vítreo modificado con PNMPy en ausencia (0 mM) y presencia de dopamina, considerando concentraciones de 10, 15 y 20 mM.

muestra la respuesta de un electrodo de carbón vítreo sin modificar en ausencia y presencia de dopamina (10 mM). Como puede observarse, la respuesta electroquímica es nula en ausencia de dopamina, mientras que en presencia de dopamina se observa un proceso con dos picos de oxidación, a 0,43 y 0,56 V. El primer pico de oxidación corresponde a la formación de polarones, mientras que el segundo es debido a la oxidación de dopamina a dopamina-*o*-quinona (ver esquema 2) [10].

La interacción del PNMPy con la dopamina se ilustra en la figura 2b, la cual muestra los voltamogramas cíclicos registrados ▶



Esquema 2. Proceso de oxidación de la dopamina.

Esquema 3. Fórmula química del poli(N-cianoetil-pirrol).

► con un electrodo modificado. La detección de dopamina se manifiesta como un aumento en la intensidad de la densidad de corriente anódica, del potencial y de la reversibilidad del proceso. Así, a pesar de que las concentraciones de dopamina son muy bajas, la densidad de corriente anódica medida con el electrodo de carbón vítreo modificado es muy superior a la registrada con el electrodo sin modificar. Además, la presencia de PNMPy hace que la densidad de corriente se amplifique considerablemente al aumentar la concentración de dopamina. Este hecho pone de manifiesto el potencial de las microesferas de PNMPy para detectar este neurotransmisor, al cual le hemos atribuido un efecto catalítico [13].

Predicción mediante simulación molecular

En este punto cabe mencionar que, con el objetivo de simplificar y reducir la discusión de este apartado, los resultados presentados se han centrado únicamente en el polímero conductor que presenta mayor afinidad por la dopamina. Durante los últimos años se han sintetizado y caracterizado diferentes derivados del PPy. Entre los casos más representativos destaca el poli(N-cianoetil-pirrol) [2], abreviado PNCNPy (ver esquema 3), debido a su capacidad para detectar vapores de algunos disolventes tóxicos [5].

Estudios de simulación basados en mecánica cuántica se emplearon para comparar la fuerza y la topología de la interacción de la dopamina-*o*-quinona con el polímero mencionado. Para ello se utilizaron procedimientos estándar que consideran todos los posibles puntos de interacción entre las dos especies, lo cual proporciona una descripción lo más rigurosa posible del sistema [1]. El análisis de las energías de interacción puso de manifiesto que el PNCNPy tiene mayor afinidad por la forma oxidada de la dopamina que el PNMPy.

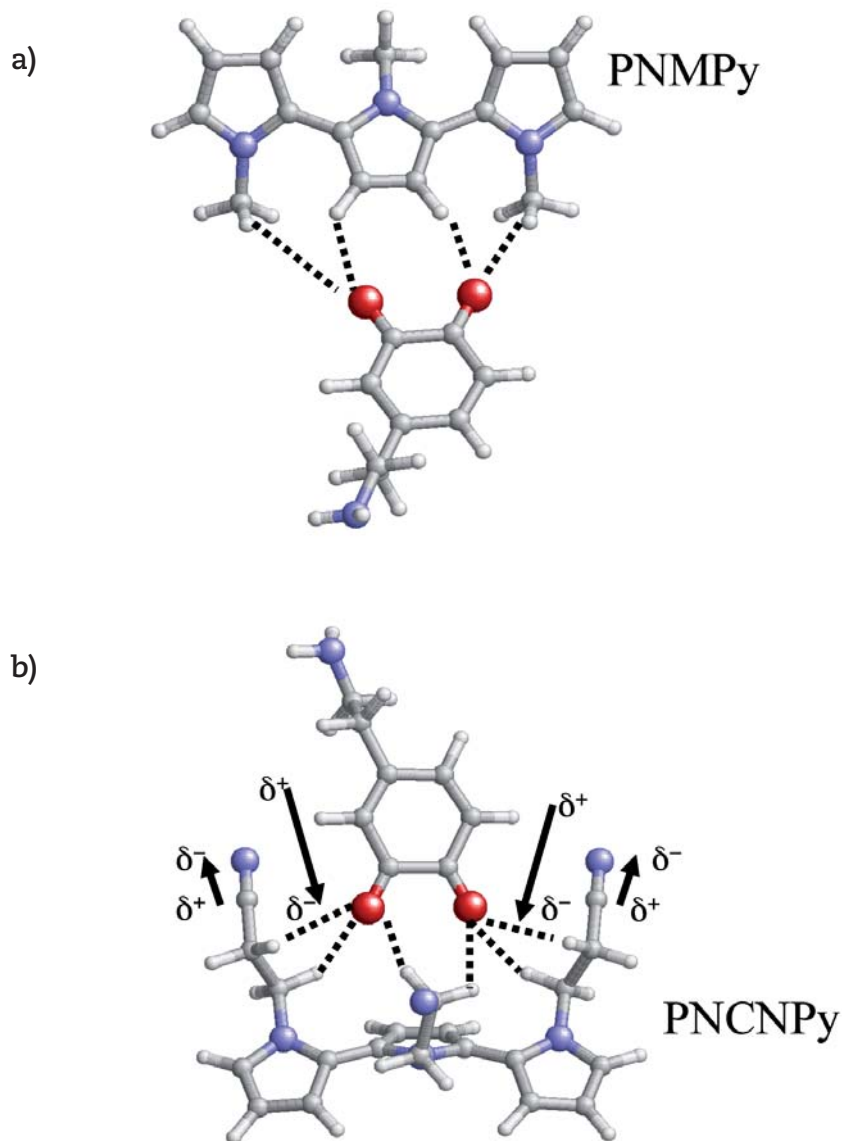


Figura 3. Modelo estructural más estable obtenido mediante simulación por ordenador para los complejos: (a) PNMPy...dopamina; y (b) PNCNPy...dopamina. Las interacciones C-H...O=C y dipolo-dipolo se indican mediante líneas punteadas y flechas, respectivamente.

Los estudios de simulación por ordenador indicaron que el complejo PNMPy...dopamina se forma gracias a interacciones de tipo C-H...O=C (ver figura 3a), las cuales son cono-

cidas por jugar un papel muy relevante en el reconocimiento molecular [6, 11]. Por otro lado, la afinidad entre el PNCNPy y la forma oxidada de la dopamina surge como conse-

cuencia de la combinación de dos tipos de interacciones diferentes: las interacciones C-H...O=C, análogas pero más abundantes que las encontradas en el complejo PNMPy...dopamina, y las interacciones dipolo-dipolo, en las que participan los grupos ciano del polímero (ver figura 3b). Estas últimas actúan reforzando las interacciones C-H...O=C.

Detección de dopamina con poli(N-cianoetil-pirrol)

Los estudios de simulación molecular indicaron que el PNCNPY es capaz de interactuar con la dopamina más intensamente que el PNMPY. En consecuencia, se desarrolló un procedimiento para modificar el electrodo de carbón vítreo con un recubrimiento formado por microesferas de PNCNPY. Estas microesferas, cuyo objetivo no es otro que incrementar la superficie de contacto entre el polímero conductor y el medio que contiene el neurotransmisor, se prepararon usando la metodología descrita anteriormente para el PNMPY.

La detección electroanalítica de dopamina mediante PNCNPY se ilustra en la figura 4, la cual recoge los voltamogramas registrados con un electrodo modificado y sumergido en una disolución que contiene concentraciones de dopamina comprendidas entre 1 mM y 10 mM. Como puede observarse, la respuesta del electrodo modificado con PNCNPY está amplificada tanto en la intensidad de corriente como en los potenciales de oxidación con respecto a la del modificado con PNMPY (ver figura 2b). Además, la sensibilidad del PNCNPY a la concentración de dopamina es significativamente mayor que la del PNMPY. Estos resultados ponen de manifiesto que la descripción microscópica de la interacción entre los polímeros conductores y la dopamina, proporcionada por la simulación computacional, es extremadamente útil no solo para explicar la afinidad de los distintos polímeros hacia el neurotransmisor, sino también para optimizar el sistema de detección.

Conclusiones

Los resultados expuestos en este artículo demuestran que las técnicas de simulación por ordenador complementan las investigaciones experimentales a la vez que permiten comprender mejor fenómenos microscópicos. En consecuencia, la colaboración entre los químicos teóricos y experimentales implica una optimización del esfuerzo de unos y

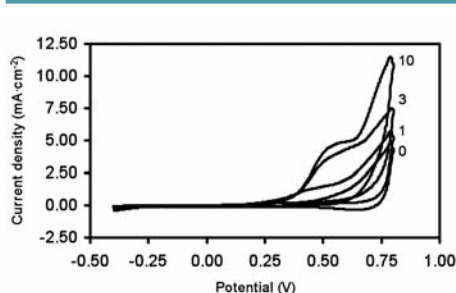


Figura 4. Voltamogramas cíclicos obtenidos con el electrodo de carbón vítreo modificado con PNCNPY en ausencia (0 mM) y presencia de dopamina, considerando concentraciones de 1, 3 y 10 mM.

otros, lo que puede reducir de forma considerable el "consumo" de recursos humanos e instrumentales.

Agradecimientos

Los autores quieren manifestar su agradecimiento al MCYT (MAT2009-09138) y a la Generalitat de Catalunya (2009 SGR 925 y XRQTC) por la financiación recibida. La investigación de Carlos Alemán está también financiada a través del premio ICREA-Academia de la Generalitat de Catalunya.

Referencias

- [1] Alemán, C.; Teixeira-Dias, B.; Zanuy, D.; Estrany, F.; Armelin, E.; del Valle, L.J. *Polymer* 2009, 55, 1.965.
- [2] Aradilla, D.; Estrany, F.; Armelin, E.; Oliver, R.; Iribarren, J.I.; Alemán, C. *Macromol. Chem.* 2010, 211, 1.663.
- [3] Benes, F.M. *Trends in Pharm. Sci.* 2001, 22, 46.
- [4] Caruso, F. *Adv. Mat.* 2001, 13, 11.
- [5] Deng, Z.; Stone D.C.; Thompson, M. *Can. J. Chem.* 1995, 73, 1.427.
- [6] Gu, Y.; Kar, T.; Scheiner, S. *J. Am. Chem. Soc.* 1999, 121, 9.411.
- [7] Hendrickson, S.M.; Krejci, M.; Elliott, C.M. *Anal. Chem.* 1997, 69, 718.
- [8] Solanki, P.R.; Arya, S.K.; Singh, S.P.; Pandey, M.K.; Malhotra, B.D. *Sensors Act. B* 2007, 123, 829.
- [9] Dall'Antonia, L.H.; Vidotti, M.E.; Córdoba de Torresi, S.I.; Torresi, R.M. *Electroanalysis* 2002, 14, 1.577.
- [10] Lin, X.Q.; Zhang, L. *Anal. Lett.*, 2001, 34, 1.585.
- [11] Mandel-Gutfreund, Y.; Margalit, H.; Jernigan, R.L.; Zhurkin, V.B. *J. Mol. Biol.* 1998, 277, 1.229.
- [12] Mangeney, C.; Bousalem, S.; Connan, C.; Vaulay, M.J.; Bernard, S.; Chehimi, M.M. *Langmuir* 2006, 22, 10.163.
- [13] Martí, M.; Fabregat, G.; Estrany, F.; Aleman, C.; Armelin, E. *J. Mat. Chem.* 2010, 20, 10.652.
- [14] Richfield, E.K.; Penney, J.B.; Young, A.B. *Neuroscience*, 1989, 30, 767.

qei

cab
product marking

A partir de diciembre 2010

Nuevo reglamento de etiquetado de sustancias peligrosas

Serie XC



La nueva generación de impresoras cab XC es la solución perfecta para la impresión de etiquetas químicas de dos colores según la nueva normativa SGA. Dos cabezales de impresión le facilitan el cumplimiento de las exigencias legales de etiquetado – contáctenos para más información.



cab España S.L.
Mataró – Barcelona
Tel.: 0034 93 741 46 05
E-Mail: info@cabsl.com
www.cab.de/es