

УДК 543.552.054.1

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ СЕНСОР НА ОСНОВЕ АЛЮМОФОСФАТНОГО ЦЕОЛИТА И КОМПЗИТА БЕТУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ С ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫМ КОМПЛЕКСОМ ХИТОЗАНА ДЛЯ РАСПОЗНАВАНИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭНАНТИОМЕРОВ НАПРОКСЕНА

© 2023 г. Р. А. Зильберг^а, *, В. Н. Майстренко^а, Ю. Б. Терес^а, И. В. Вакулин^а,
Е. О. Булышева^а, А. А. Селуянова^а

^аУфимский институт науки и технологий, химический факультет

ул. Заки Валиди, 32, Уфа, 450076 Россия

*e-mail: ZilbergRA@yandex.ru

Поступила в редакцию 09.02.2023 г.

После доработки 02.03.2023 г.

Принята к публикации 02.03.2023 г.

Разработан вольтамперометрический сенсор на основе стеклоуглеродного электрода с осажденным на его поверхности мелкодисперсным алюмофосфатным цеолитом, модифицированным полиэлектrolитным комплексом хитозана с сукцинилхитозаном и бетулиновой кислотой, для селективного распознавания и определения энантиомеров напроксена. Изучены электрохимические и аналитические характеристики сенсора, рассчитаны площадь эффективной поверхности электрода ($A = 9.8 \pm 0.5 \text{ мм}^2$) и сопротивление переноса заряда ($R_{\text{et}} = 649.9 \pm 0.4 \text{ Ом}$). При определении энантиомеров напроксена градуировочные характеристики линейны в диапазоне от 2.5×10^{-5} до $1 \times 10^{-3} \text{ М}$ с пределами обнаружения 1.1×10^{-7} и $1.5 \times 10^{-7} \text{ М}$ и нижними границами определяемых концентраций 3.6×10^{-7} и $4.9 \times 10^{-7} \text{ М}$ для R- и S-энантиомеров напроксена соответственно. Большую чувствительность сенсор проявляет к R-напроксену ($\Delta E_p = 60 \text{ мВ}$, $i_{pR}/i_{pS} = 1.40$). Предложенный сенсор применен для распознавания и определения энантиомеров напроксена в образцах мочи и плазмы крови человека. Статистическая оценка результатов измерений методом введено—найдено свидетельствует об отсутствии систематической погрешности.

Ключевые слова: вольтамперометрия, энантиоселективные сенсоры, энантиомеры напроксена, тритерпеноиды, бетулиновая кислота, цеолиты, полиэлектrolитный комплекс хитозана и сукцинилхитозана.

DOI: 10.31857/S0044450223070162, EDN: VSELHV

Среди лекарственных препаратов после антибиотиков анальгетики занимают второе место по распространенности. К группе нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) относится напроксен (Nар), который применяется для уменьшения болей, вызванных различными причинами. При клинических исследованиях новых НПВП Nар часто выступает в роли препарата сравнения. Как быстродействующий анальгетик зачастую он дает лучший эффект, чем опиоидные препараты [1, 2]. Помимо уменьшения воспалений, Nар широко применяется для лечения различных заболеваний, таких как

ревматоидный артрит, болезнь Бехтерева, первичная дисменорея и острая подагра [3–10]. Обычно фармацевтические препараты Nар содержат S-энантиомер, поскольку его фармацевтическая активность в 28 раз выше, чем у R-энантиомера, при этом последний гепатотоксичен. В связи с этим определение энантиочистоты лекарственных препаратов на основе Nар является актуальной аналитической задачей. Для определения энантиомеров Nар применяют капиллярный электрофорез [11, 12], высокоэффективную жидкостную хроматографию [13–16], спектрофлуориметрию [17–19] и другие

методы. Несмотря на высокую эффективность, перечисленные выше методы зачастую недостаточно экспрессны, их стоимость достаточно высока для использования в рутинном анализе, особенно вне стационарных лабораторий, что обуславливает постоянно растущий интерес к развитию других методов энантиомерного анализа, в том числе на основе энантиоселективных электрохимических сенсоров [20–26]. Получение энантиодифференцированного сигнала предусматривает взаимодействие определяемого хирального соединения (одного или в смеси энантиомеров) и хирального селектора [27–30]. В качестве модификаторов наиболее часто применяют циклодекстрины [31–33], аминокислоты и их производные [34, 35], различные наноматериалы [36] и др. Однако не всегда удается создать сенсор, который бы полностью удовлетворял основным требованиям: низкая стоимость, стабильность, простота изготовления, воспроизводимость результатов измерений. Актуальной задачей является разработка энантиоселективных сенсоров на основе новых хиральных материалов, в том числе на основе хиральных композитов.

Важной характеристикой энантиоселективных сенсоров на основе хиральных композитов является зависимость их чувствительности и пределов обнаружения от эффективной площади сенсорной поверхности [37]. Для увеличения площади чувствительного слоя сенсора в композиты вводят углеродные нанотрубки, восстановленный оксид графена, пористые углеродные материалы Carboblack C [38, 39] и Carborack [40]. Среди материалов с развитой поверхностью не меньший интерес представляют цеолиты, которые характеризуются не только большой удельной площадью поверхности, но и наличием пор и каналов строго определенного размера и структуры в зависимости от типа цеолита [41]. Основанное на перечисленных выше свойствах применение цеолитов в качестве стереоселективных катализаторов [42] и адсорбентов [43] хорошо известно, однако возможность их применения в составе композитных энантиоселективных вольтамперометрических сенсоров мало изучена.

В настоящей работе разработан и изучен сенсор на основе стеклоуглеродного электрода с осажденными на его поверхности мелкодисперсными алюмофосфатными цеолитами, модифицированными полиэлектролитным комплексом хитозана с сукцинилхитозаном и бетулиновой кислотой, для селективного распознавания и определения энантиомеров Нар. Характеристики модифицированного и немодифицированного электродов изучали

методами сканирующей электронной микроскопии, спектроскопии электрохимического импеданса, циклической вольтамперометрии, дифференциально-импульсной вольтамперометрии и молекулярно-динамического моделирования.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Циклические и дифференциально-импульсные вольтамперограммы регистрировали на потенциостате-гальваностате AUTOLAB PGSTAT 204 в стандартной трехэлектродной ячейке, состоящей из немодифицированного или модифицированного стеклоуглеродного электрода (СУЭ) диаметром 3 мм в качестве рабочего электрода, платиновой пластинки площадью 200 мм² в качестве вспомогательного электрода и хлоридсеребряного электрода сравнения (Ag/AgCl (3.5 М KCl)). Циклические вольтамперограммы регистрировали в диапазоне потенциалов от 0.3 до 1.2 В со скоростью сканирования потенциала 100 мВ/с. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы регистрировали в диапазоне потенциалов от 0.0 до 1.8 В с амплитудой 25 мВ, интервалом времени 0.5 с, временем модуляции 0.05 с и скоростью сканирования потенциала 20 мВ/с. Импедансметрические измерения проводили на импедансметре AUTOLAB PGSTAT 204 в стандартной трехэлектродной ячейке. Спектры импеданса регистрировали в диапазоне частот переменного тока от 50 кГц до 0.1 Гц с амплитудой 5 мВ.

В электрохимическую, термостатируемую при $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$ ячейку помещали 20 мл аналита и регистрировали вольтамперные кривые. Массив данных для каждого образца состоял из пяти параллельных измерений, достаточных для получения воспроизводимых результатов. Для определения значений токов и потенциалов пиков окисления, параметров эквивалентных электрических схем применяли программное обеспечение AUTOLAB NOVA 2.1. Перед началом каждого эксперимента поверхность СУЭ полировали с использованием деагломерированной суспензии на основе Al_2O_3 (0.3 мкм) и полировального материала Spec-Cloth Adhesiveblackdisk 200 мм (Allied High Tech Products Inc., США) с тщательной промывкой электрода деионизованной водой и сушили электрод на воздухе при комнатной температуре.

Для модифицирования СУЭ в качестве основы композита использовали полиэлектролитный комплекс (ПЭК), который получали из раствора гидрохлорида хитозана с молекулярной массой 30 кДа и степенью деацетилирования 75% (ЗАО “Биопрогресс”, Россия) и натриевой соли N-сукцинилхитозана (молекулярная

масса 200 кДа, соль получена из хитозана со степенью деацетилирования 82%), (ЗАО “Био-прогресс”, Россия). Гидрохлорид хитозана представлял собой пленку, полученную из солянокислого раствора хитозана, который готовили растворением 0.25 г хитозана (молекулярная масса 30 кДа) со степенью деацетилирования 75% в 50 мл 1%-ной HCl. Пленку высушивали сначала на воздухе с последующим высушиванием под вакуумом до постоянной массы. Водные дисперсии ПЭК получали при 25°C добавлением к водным растворам N-сукцинилхитозана (0.005%) водного раствора гидрохлорида хитозана (0.005%) по каплям при интенсивном перемешивании (500 об./мин) с интервалом 2 мин между введением порций. При добавлении к полученной смеси новых порций раствора гидрохлорида хитозана происходило разделение фаз (наблюдалась устойчивая опалесценция системы). Область существования дисперсий частиц ПЭК ограничивается мольным соотношением 1 : 10, выше которого в процессе смешения компонентов наблюдается осаждение ПЭК [44, 45]. ПЭК хранили в течение трех суток в холодильнике.

Смесь ионов гексацианоферрата(II) и гексацианоферрата(III), представляющую собой обратимую окислительно-восстановительную систему, готовили на фоне 0.1 М раствора KCl. Водные растворы готовили с использованием деионизованной воды с удельной проводимостью 0.1 мкСм/см. Раствор $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (5 мМ) использовали в качестве стандартного при электрохимических измерениях. В качестве индифферентного электролита использовали универсальный буферный раствор Бриттона–Роббинсона с pH 7.0, приготовленный из 0.04 М раствора смеси трех кислот (CH_3COOH , H_3PO_4 , H_3BO_3) добавлением 0.2 М раствора NaOH с последующим измерением pH с помощью pH-метра Seven Compact pH/Ion S220 (Mettler-Toledo AG, Швейцария).

Стандартные растворы (1 мМ) R- и S-энантиомеров Nap (Sigma-Aldrich, США) с чистотой 98% готовили растворением точных навесок соответствующего реагента в колбах емк. 50 мл в универсальном буферном растворе Бриттона–Роббинсона с pH 7.0. Растворы более низких концентраций получали разбавлением исходных растворов. Исследуемый раствор объемом 20 мл помещали в электрохимическую ячейку.

Свежезамороженную плазму крови (A(II)Rh+) человека приобретали на Республиканской станции переливания крови (Уфа), образцы мочи получали с письменного согласия донора. Перед

проведением исследований образцы мочи и предварительно размороженной плазмы крови объемом 2.5 мл центрифугировали в течение 10 мин, затем разбавляли универсальным буферным раствором Бриттона–Роббинсона с pH 7.0 в колбе емк. 25 мл. В полученные растворы добавляли известные количества R- и S-Nap для получения растворов с концентрацией 0.075, 0.250 и 0.550 мМ и регистрировали вольтамперограммы в дифференциально-импульсном режиме при рабочих условиях, установленных при регистрации вольтамперных кривых чистых энантиомеров Nap.

В качестве хиральных селекторов изучали ряд тритерпеноидов (1–5) представляющих собой бетулин (1) и его производные (схема 1). Данные соединения относительно доступны, имеют низкую токсичность и высокую оптическую чистоту. Их получают из природного тритерпеноида бетулина. Для экспериментов использовали коммерчески доступные бетулин и олеаноловую кислоту (2) фирмы “ABCR” с чистотой 99%. Синтезированные из тритерпеноида (2) по известным методикам [46–48] образцы бетулиновой кислоты (3) (БК), ее метилового эфира (5) и тритерпеноида (4) предоставлены Лабораторией органического синтеза Института нефтехимии и катализа УФИЦ РАН. Образец алюмофосфатного цеолита $\text{AlPO}_4\text{-11}$, предоставленный Лабораторией приготовления катализаторов того же института, был синтезирован по методике [49]. Полученный образец имел морфологию кристаллов в виде псевдосферических агрегатов размером ~ 10 мкм, состоящих из кубических нанокристаллов размером 50–100 нм с пористой структурой с $S_{\text{ВЕТ}} = 240 \text{ м}^2/\text{г}$ (удельная поверхность), $V_{\text{micro}} = 0.07 \text{ м}^2/\text{г}$ (объем микропор), $V_{\text{meso}} = 0.12 \text{ м}^2/\text{г}$ (объем мезопор).

Для изготовления сенсора 0.002 г хирального модификатора добавляли к 10 мл ПЭК и помещали в ультразвуковую ванну на 15 мин. Далее к 1 мл смеси ПЭК-БК добавляли навеску цеолита $\text{AlPO}_4\text{-11}$ (AEL) массой 0.004 г и перемешивали полученную смесь в течение 5 мин со скоростью 200 об/мин. Для модифицирования СУЭ 0.3 мкл смеси ПЭК-БК/AEL наносили на подготовленную поверхность электрода и сушили электрод под ИК-лампой (250 Вт). После каждого измерения поверхность рабочего электрода регенерировали.

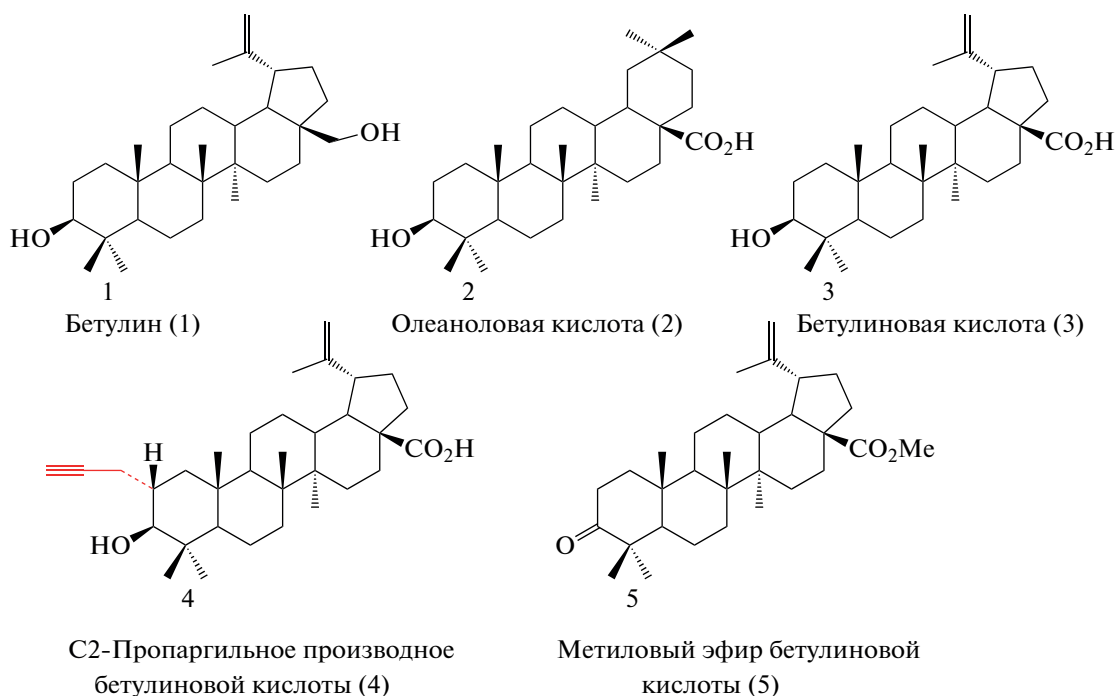


Схема 1. Структуры хиральных модификаторов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологию поверхности и микроструктуру материалов изучали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с полевой эмиссией (FE-SEM) на электронном микроскопе Hitachi SU8000. Перед съемкой образец AEL помещали на поверхность алюминиевого столика диаметром 25 мм и фиксировали его с помощью проводящего углеродного скотча. Съемку изображений проводили в режиме регистрации вторичных электронов при ускоряющем напряжении 10 кВ. На рис. 1 приведены СЭМ-изображения поверхности СУЭ, модифицированного ПЭК, ПЭК-БК, ПЭК/AEL и ПЭК-БК/AEL. На рис. 1в видны хорошо выраженные границы образующихся

структур ПЭК/AEL. После модифицирования цеолитов БК (рис. 1г) их границы размываются, что свидетельствует о равномерном покрытии частиц AEL бетулиновой кислотой. Это подтверждается также уменьшением среднеквадратичной шероховатости поверхности полученных образцов ($S_q(\text{СУЭ/ПЭК/AEL}) = 199.524 \text{ мкм}$, $S_q(\text{СУЭ/ПЭК-БК/AEL}) = 147.874 \text{ мкм}$). Среднеквадратичную шероховатость поверхности композитных материалов размером $20 \times 20 \text{ мкм}$ рассчитывали с использованием программы Gwyddion 2.60.

Известно [26], что Nap необратимо окисляется на СУЭ в нейтральной среде в диапазоне потенциалов от 0.9 до 1.25 В с образованием двух пиков на вольтамперограммах (схема 2).

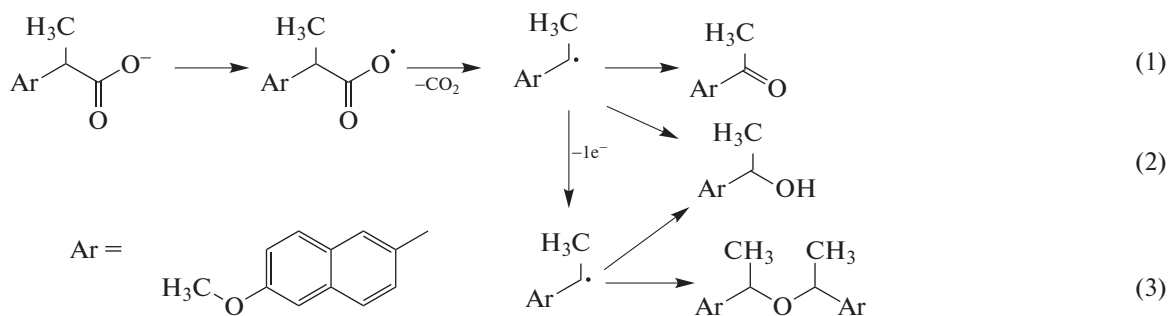


Схема 2. Механизм электроокисления напроксена (Nap) [26].

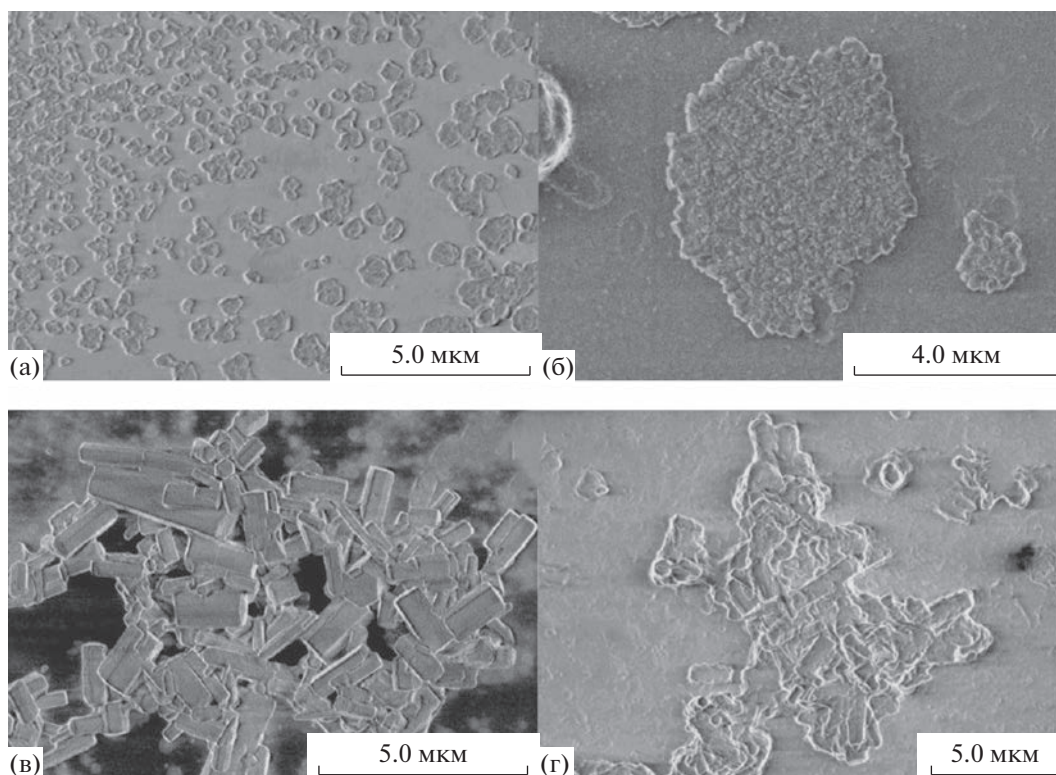


Рис. 1. СЭМ-изображения поверхности СУЭ, модифицированной ПЭК (а), ПЭК-БК (б), ПЭК/AEL (в) и ПЭК-БК/AEL (г).

При изучении энантиоселективности сенсоров, модифицированных тритерпеноидами 1–5 (схема 1), установили, что разность аналитических сигналов энантиомеров, в качестве которых рассматривали второй пик окисления Nap, максимальна для сенсора, модифицированного БК ($\Delta i_2 = 2.29$ мкА) (рис. 2а). Дальнейшие исследования выполняли с использованием сенсора, модифицированного БК. Введение в композит помимо БК частиц AEL повышает эффективную площадь поверхности электрода и воспроизводимость измерений. Для выбора оптимального состава композита исследовали зависимости относительного стандартного отклонения тока пика окисления и энантиоселективности сенсора к энантиомерам Nap от соотношения ПЭК : БК : AEL. Наилучшие результаты наблюдали при соотношении ПЭК : БК 10 мл : 2 мг (рис. 2б) и ПЭК-БК : AEL – 1 мл : 4 мг (рис. 2в). Экспериментально установили оптимальный объем композита, наносимого на поверхность электрода, – 0.3 мкл (рис. 2г) и срок хранения композита – 3 дня (рис. 2д). Погрешность измерений составила 3–5%.

Для изучения электрохимических свойств СУЭ, СУЭ/ПЭК, СУЭ/ПЭК/AEL, СУЭ/ПЭК-БК, СУЭ/ПЭК-БК/AEL использовали циклическую вольтамперометрию и спектроскопию электро-

химического импеданса. В качестве стандартного редокс-зонда применяли эквимоллярную смесь ферри- и ферроцианидов калия $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (5 мМ) в 0.1 М растворе KCl. Как следует из рис. 3а, окислительно-восстановительные пики $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ обратимы на всех электродах. Эффективную площадь поверхности сенсоров оценивали с помощью уравнения Рэндлса–Шевчика [50]:

$$I_p = (2.69 \times 10^5) n^{2/3} A D^{1/2} c v^{1/2},$$

где I_p – ток пика окисления, А; n – число переносимых электронов; A – эффективная площадь поверхности электрода, см²; D – коэффициент диффузии, см²/с (для $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ в 0.1 М растворе KCl $n = 1$, $D = 7.6 \times 10^{-6}$ см²/с); c – концентрация $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, мМ; v – скорость сканирования потенциала, В/с. Результаты расчетов представлены в табл. 1. При добавлении в композиты цеолита AEL возрастает эффективная площадь поверхности электрода, что объясняет увеличение токов пиков окисления Nap на электродах, модифицированных цеолитсодержащими композитами, кроме того, может происходить накопление аналитов в порах цеолита.

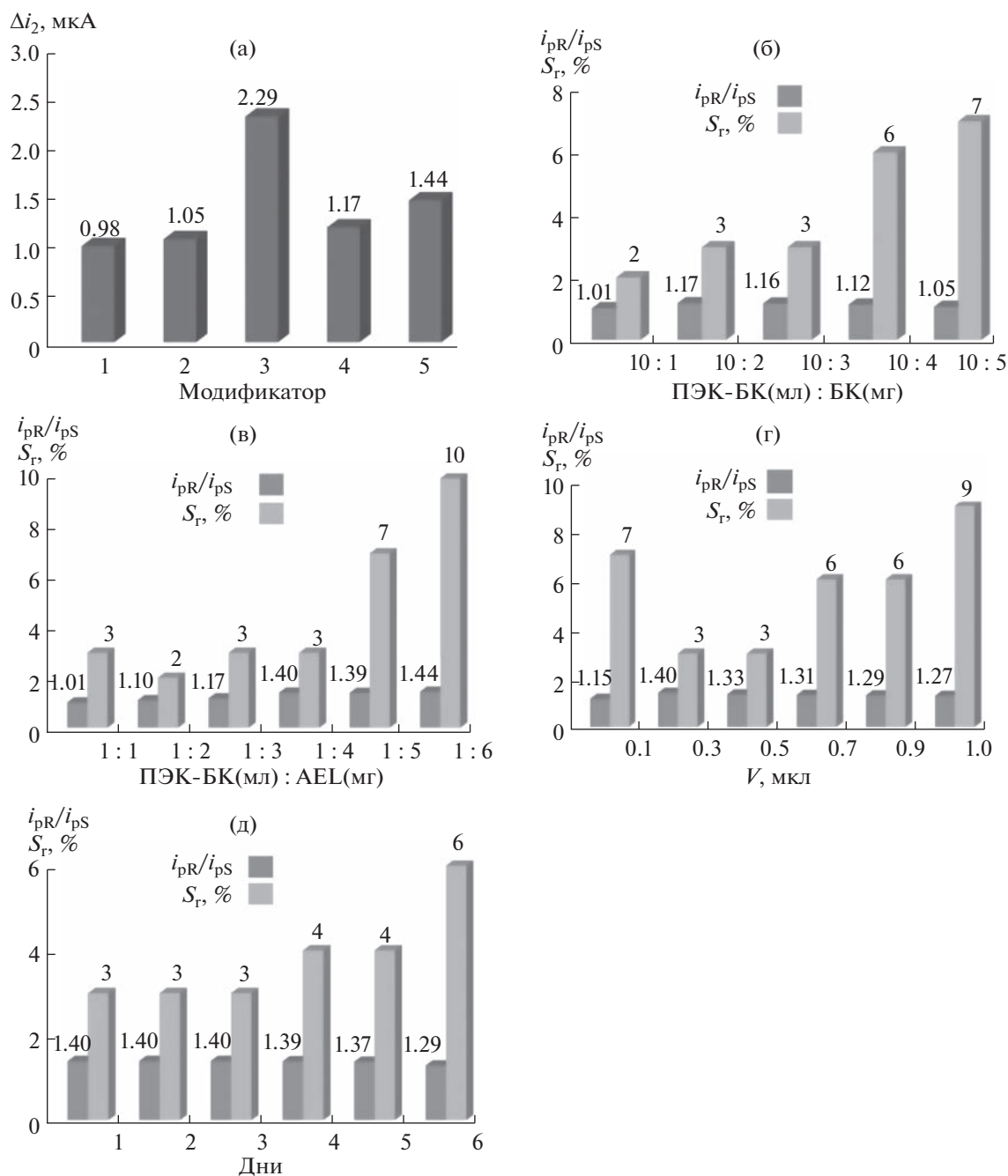


Рис. 2. Зависимость Δi_2 окисления напроксена от состава хирального селектора (схема 1) (а); зависимость коэффициента энантиоселективности и относительного стандартного отклонения от соотношения компонентов композита (б), (в); от объема наносимого композита (г); от срока хранения композита (д).

Для подтверждения полученных закономерностей регистрировали спектры импеданса, используя для количественной интерпретации данных эквивалентную схему Рэндлса. (рис. 3б). Анализ диаграмм Найквиста свидетельствует о том, что данные импедансометрии и циклической вольтамперометрии хорошо согласуются между собой.

Для установления природы наблюдаемых токов регистрировали зависимость максимальных токов пиков от скорости сканирования потенциала в диапазоне от 10 до 200 мВ/с (рис. 4). Линейная зависимость токов пика окисления (i_p) от квадратного корня скорости сканирования потенциала ($v^{1/2}$) свидетельствует о том, что элект-

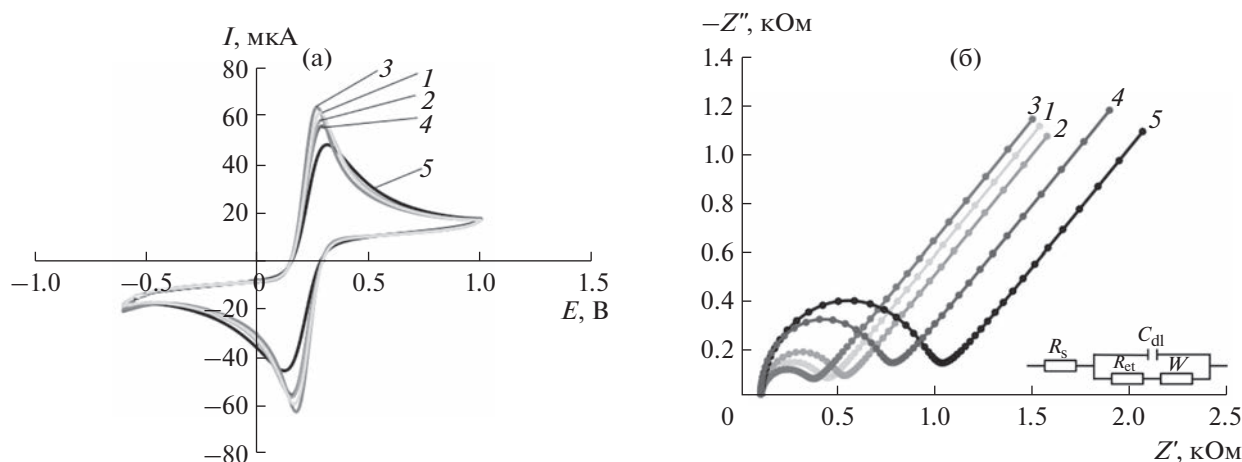


Рис. 3. Циклические вольтамперограммы (а) и диаграммы Найквиста (б) 5 мМ раствора редокс-пары $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ на различных электродах (1 – СУЭ, 2 – СУЭ/ПЭК, 3 – СУЭ/ПЭК/AEL, 4 – СУЭ/ПЭК-БК/AEL, 5 – СУЭ/ПЭК-БК) на фоне 0.1 М раствора KCl при скорости сканирования потенциала 100 мВ/с.

тродный процесс окисления Нар на СУЭ/ПЭК-БК/AEL контролируется диффузией электроактивного вещества к поверхности электрода.

Методом дифференциально-импульсной вольтамперометрии исследовали способность распознавания и определения энантиомеров Нар предложенным вольтамперометрическим сенсором (рис. 5). На немодифицированном СУЭ и на СУЭ/ПЭК токи пиков окисления R- и S-Нар не имели существенных различий, но для композитных сенсоров СУЭ/ПЭК-БК и СУЭ/ПЭК-БК/AEL наблюдали отличия в аналитических сигналах энантиомеров. При добавлении в смесь ПЭК-БК цеолита AEL разница в аналитических сигналах энантиомеров Нар на полученном сенсоре заметно возрастает (табл. 2) по сравнению с сенсором СУЭ/ПЭК-БК. Мы полагаем, что большая разность аналитических сигналов обусловлена увеличением эффективной поверхности электрода при добавлении цеолита в композит.

Электрохимические характеристики исследованных сенсоров приведены в табл. 2. Сенсор СУЭ/ПЭК-БК/AEL проявляет большую чувствительность к R-Нар, при этом разница потенциалов первых пиков составляет 50 мВ, а вторых – 60 мВ. Коэффициент селективности для первого пика равен 1.05, а для второго – 1.40.

Для определения R- и S-Нар использовали дифференциально-импульсную вольтамперометрию. В качестве аналитического сигнала рассматривали второй пик окисления энантиомеров Нар (рис. 6), высота которого линейно зависит от концентрации энантиомеров в диапазоне от 2.5×10^{-5} до 1×10^{-3} М. Пределы обнаружения по 3σ -критерию составляют 1.1×10^{-7} и 1.5×10^{-7} М, нижние границы определяемых концентраций по

10 σ -критерию – 3.6×10^{-7} и 4.9×10^{-7} М для R- и S-Нар соответственно.

Правильность результатов определения энантиомеров Нар с использованием разработанного сенсора оценивали методом введено–найдено. Точность определения концентрации модельных растворов оставалась высокой во всем линейном диапазоне. Относительное стандартное отклонение во всех случаях не превышает 2.1%, что свидетельствует о хорошей воспроизводимости, а значения относительной погрешности измерений, не превышающие 1.2%, свидетельствует о правильности измерений (табл. 3). Относительное стандартное отклонение при определении энантиомеров Нар в биологических жидкостях не превышает 3.4%, а относительная погрешность измерений – 3.0% (табл. 3). Статистическая оценка

Таблица 1. Площадь эффективной поверхности по данным циклической вольтамперометрии и значения сопротивления переноса заряда по данным спектроскопии электрохимического импеданса ($n = 5$, $P = 0.95$)

Электрод	A , мм ²	R_{et} , Ом
СУЭ	10.8 ± 0.3	313.7 ± 0.3
СУЭ/ПЭК	10.1 ± 0.2	395.2 ± 0.2
СУЭ/ПЭК/AEL	11.3 ± 0.4	251.4 ± 0.5
СУЭ/ПЭК-БК	8.2 ± 0.4	867.9 ± 0.5
СУЭ/ПЭК-БК/AEL	9.8 ± 0.5	649.9 ± 0.4

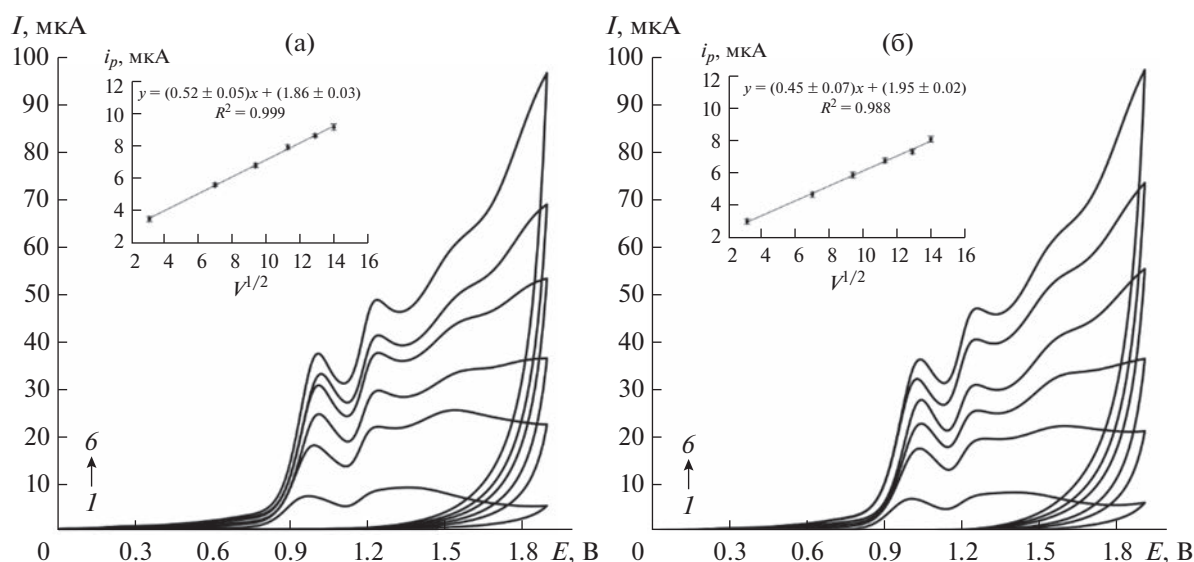


Рис. 4. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы 1 мМ растворов R- (а) и S-Nar (б) при скоростях сканирования потенциала: 10 (1), 50 (2), 90 (3), 130 (4), 170 (5), 200 (6) мВ/с на фоне универсального буферного раствора Бриттона–Роббинсона с pH 7.0. Вставки: зависимость тока пиков от квадратного корня скорости сканирования потенциала.

результатов, полученных методом введено–найденно, свидетельствует об отсутствии значимой систематической погрешности.

Структуру ассоциатов R-Nar*БК и S-Nar*БК устанавливали методом последовательного приближения. Предварительно с помощью программы Accelrys Material Studio v.8.0 с использованием модуля Adsorption Locator и силового поля COM-PASS II находили варианты наиболее оптимального взаимного расположения молекул в ассоци-

ате. Затем структуры и свободные энергии Гиббса образования ассоциатов уточняли с использованием полуэмпирического приближения RM1 с помощью программы HyperChem 8.10 [51].

По данным квантово-химических расчетов наибольший вклад в образование ассоциатов R-Nar*БК и S-Nar*БК вносят водородные связи между карбоксильными группами Нар и БК (рис. 7). В силу значительного различия в структурах БК и Нар иные слабые взаимодействия (стэкинговые, дисперсионные, гидрофобные и др.) не проявляются или проявляются в крайне незначительной степени. Это является причиной отсутствия каких-либо специфических взаимодействий между энантиомерами Нар и БК, что подтверждается незначительной разницей в энергиях Гиббса между ассоциатами R-Nar*БК и S-Nar*БК. Разница энергий Гиббса $\Delta\Delta_f G^{298}$ составляет всего лишь 2.5 кДж/моль, при этом ассоциат R-Nar*БК является энергетически более выгодным, что согласуется с более высокой энантиочувствительностью сенсора СУЭ/ПЭК-БК/AEL по отношению к R-энантиомеру Нар.

В ряду рассмотренных сенсоров наиболее эффективным является сенсор на основе стеклоуглеродного электрода, модифицированного композитом полиэлектролитного комплекса хитозана–сукцинилхитозана с бетулиновой кислотой и алюмофосфатным цеолитом. Исследования электрохимических характеристик сенсоров позволи-

Таблица 2. Характеристики дифференциально-импульсных вольтамперограмм 1 мМ растворов напроксена на немодифицированном и модифицированных СУЭ в универсальном буферном растворе Бриттона–Роббинсона с pH 7.00 при скорости сканирования потенциала 20 мВ/с

Электрод	ΔE_1 , мВ	ΔE_2 , мВ	i_{p1R}/i_{p1S}	i_{p2R}/i_{p2S}
СУЭ	0	0	1.00	1.00
СУЭ/ПЭК	40	40	1.00	1.00
СУЭ/ПЭК/AEL	40	50	1.07	1.08
СУЭ/ПЭК-БК	20	60	1.10	1.17
СУЭ/ПЭК-БК/AEL	50	60	1.05	1.40

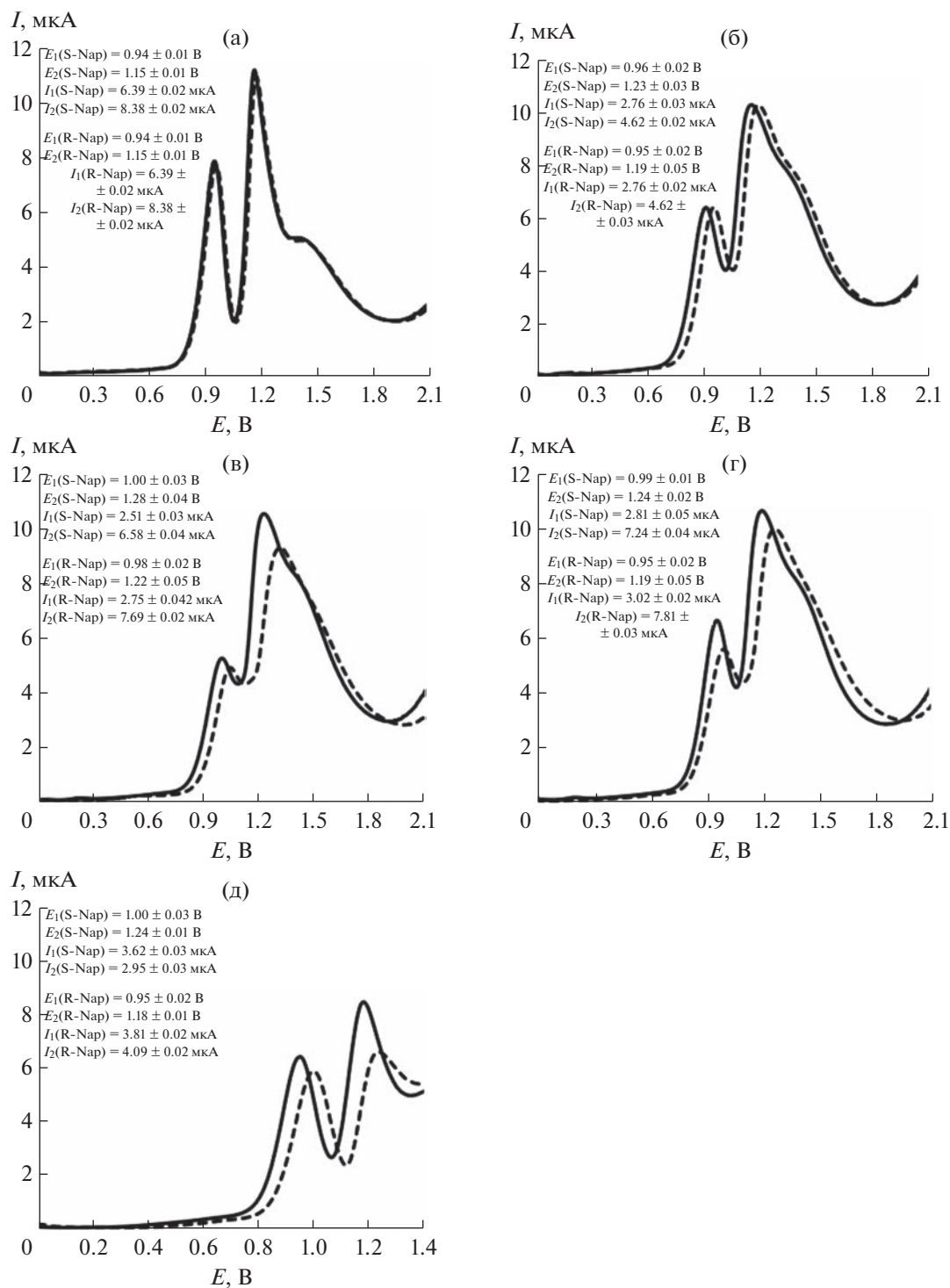


Рис. 5. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы 1 мМ растворов S- (пунктирная линия) и R-Nap (сплошная линия) на фоне универсального буферного раствора Бриттона – Роббинсона с pH 7.00 на СУЭ (а), СУЭ/ПЭК (б), СУЭ/ПЭК-БК (в), СУЭ/ПЭК/AEL (г) и СУЭ/ПЭК-БК/AEL (д) при скорости сканирования потенциала 20 мВ/с.

ли установить, что введение в композит помимо бетулиновой кислоты частиц AEL повышает эффективную площадь поверхности электрода, селективность и воспроизводимость измерений.

Разработанный сенсор СУЭ/ПЭК-БК/AEL обеспечивает эффективное распознавание и определение энантиомеров Nap с коэффициентом энантиоселективности 1.40 и разностью потенциалов

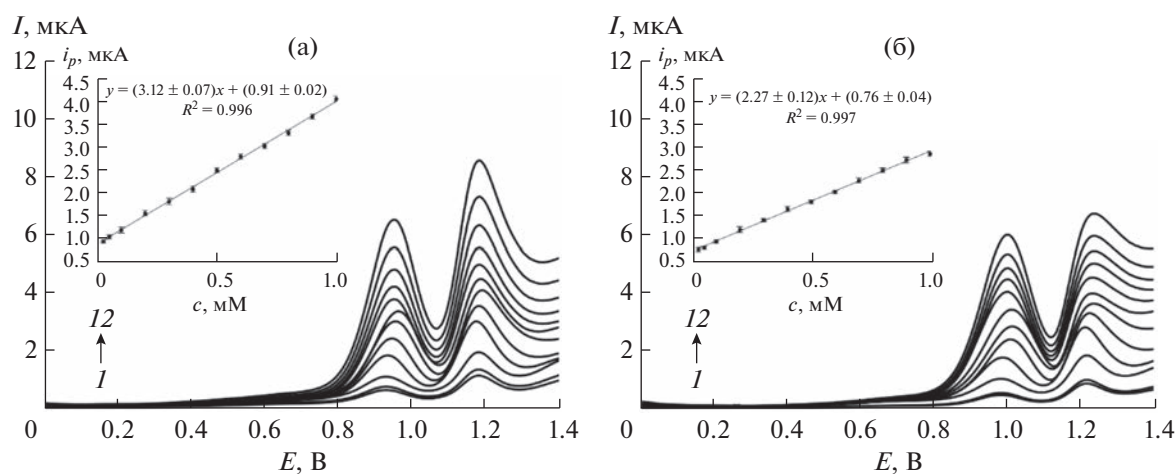


Рис. 6. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы растворов R- (а) и S-Nap (б) с концентрациями: 0.025 (1), 0.05 (2), 0.1 (3), 0.2 (4), 0.3 (5), 0.4 (6), 0.5 (7), 0.6 (8), 0.7 (9), 0.8 (10), 0.9 (11) и 1 (12) mM на фоне универсального буферного раствора Бриттона – Роббинсона с pH 7.00 при скорости сканирования потенциалов 20 мВ/с. Вставки: соответствующие градуировочные графики.

между пиками их окисления $\Delta E = 60$ мВ. По сравнению с другими энантиоселективными сенсорами (табл. 4), обладающими большим коэффициентом энантиоселективности [20, 22, 24], предложенный сенсор позволяет определять энантиомеры Nap в более широком концентрационном диапазоне. Значения пределов обнаруже-

ния, полученные с помощью разработанного сенсора, сравнимы, а в некоторых случаях ниже [21], чем для других сенсоров, описанных в литературе, при этом значение коэффициента энантиоселективности сопоставимо [23] или превосходит [25] аналогичный параметр некоторых известных энантиоселективных сенсоров. Данный сенсор

Таблица 3. Результаты определения энантиомеров напроксена на СУЭ/ПЭК-БК/AEL в модельных растворах и биологических жидкостях на фоне универсального буферного раствора Бриттона–Роббинсона с pH 7.00 при скорости сканирования потенциала 20 мВ/с ($n = 5$; $P = 0.95$)

Образец	Введено, мкМ		Найдено, мкМ		Относительная погрешность, %		s_r , %	
	R-Nap	S-Nap	R-Nap	S-Nap	R-Nap	S-Nap	R-Nap	S-Nap
Растворы чистых энантиомеров	75	75	75 ± 8	74 ± 9	0.5	1.0	1.7	1.9
	250	250	249 ± 6	247 ± 6	0.3	1.2	2.1	2.1
	550	550	548 ± 9	545 ± 10	0.4	1.0	1.4	1.5
Плазма крови	75	75	76 ± 2	73 ± 3	1.4	2.1	2.2	2.8
	250	250	245 ± 8	243 ± 7	1.8	3.0	2.9	3.4
	550	550	546 ± 6	544 ± 7	0.8	1.1	2.5	2.8
Моча	75	75	74 ± 2	73 ± 3	1.6	2.3	2.4	3.3
	250	250	251 ± 8	245 ± 5	0.6	2.1	2.7	3.2
	550	550	554 ± 4	546 ± 6	0.7	0.8	2.3	2.7

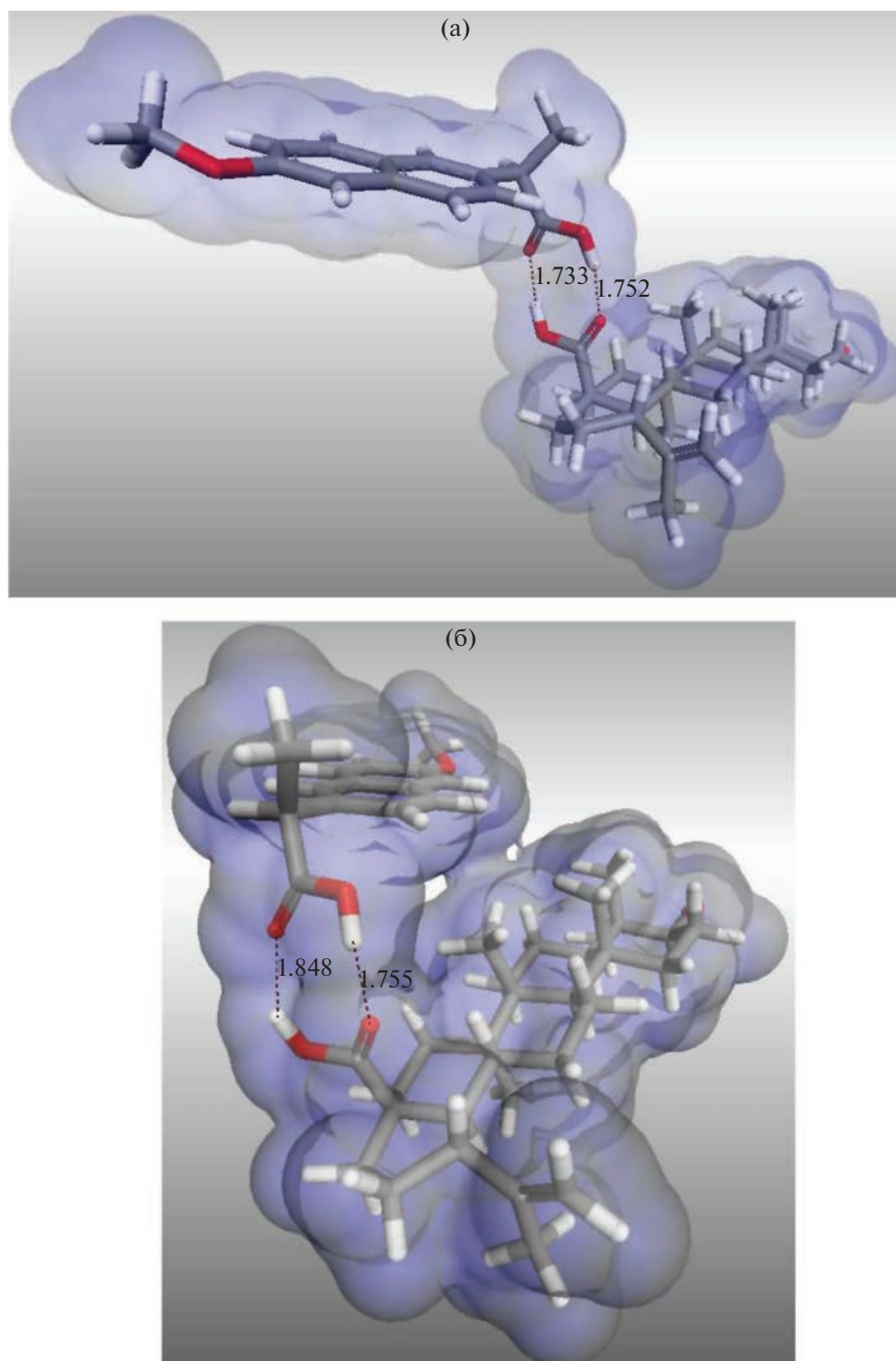


Рис. 7. Н-связи (Å) в ассоциатах R-Nar*БК (а) и S-Nar*БК (б).

является эффективной хиральной платформой для определения энантиомеров Nar, отличается низкой стоимостью, простотой изготовления, высокой чувствительностью и точностью определения энантиомеров Nar как в модельных растворах, так и в образцах биологических жидкостей.

Авторы выражают благодарность Лаборатории приготовления катализаторов и Лаборатории органического синтеза ИНК УФИЦ РАН за предоставленные образцы цеолитов и тритерпеноидов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-13-00169, <https://rscf.ru/project/21-13-00169/>.

Таблица 4. Характеристики предложенного сенсора СУЭ/ПЭК-БК/AEL и описанных в литературе сенсоров для определения энантиомеров напроксена

Сенсор	Метод	Эффект распознавания	Линейный диапазон, предел обнаружения	Литература
L-CYS/Au NPs/Au	ЦВ	$i_{pR}/i_{pS} = 5.4$ $\Delta E_p = 110$ мВ	$2 \times 10^{-6} - 2 \times 10^{-5}$ 6.7×10^{-7}	[20]
СУЭ/L-Cys/RGO	ЦВ	$i_{pR}/i_{pS} = 3.4$ $\Delta E_p = 220$ мВ	$5.0 \times 10^{-6} - 1.3 \times 10^{-4}$ 3.5×10^{-7} для S-Nap 2.5×10^{-6} для R-Nap	[21]
СУЭ/TBO@rGO	ЦВ	$i_{pR}/i_{pS} = 2.29$	$5.0 \times 10^{-4} - 1.3 \times 10^{-3}$ 3.3×10^{-7}	[22]
GCE/rGO-TsPro-Cs	ДИВ	$i_{pR}/i_{pS} = 1.4$ $\Delta E_p = 40$ мВ	$2.0 \times 10^{-5} - 5.0 \times 10^{-4}$ М 4.1×10^{-7}	[23]
СУЭ/ β -CD/EG	ДИВ	$i_{pR}/i_{pS} = 2.26$	$4 \times 10^{-7} - 6 \times 10^{-6}$ 7×10^{-8}	[24]
GCE/PEC-[Cu(S-Ala) ₂]-[Cu(S-Phe) ₂]	ДИВ	$i_{pS}/i_{pR} = 1.27$ $\Delta E_p = 30$ мВ	$2.5 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-3}$ 3.0×10^{-7} для S-Nap 3.8×10^{-7} для R-Nap	[25]
GCE/PEC-[Zn(S-Ala) ₂ (H ₂ O)]-[Zn(S-Phe) ₂ (H ₂ O)]	ДИВ	$i_{pS}/i_{pR} = 1.12$ $\Delta E_p = 20$ мВ	$2.5 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-3}$ 3.8×10^{-7} для S-Nap 4.2×10^{-7} для R-Nap	[25]
СУЭ/ПЭК-БК/AEL	ДИВ	$i_{pR}/i_{pS} = 1.40$ $\Delta E_2 = 60$ мВ	$2.5 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-3}$ М 1.1×10^{-7} для R-Nap 1.5×10^{-7} М для S-Nap	Данная работа

Примечание: L-CYS – L-цистеин; AuNPs – наночастицы золота; RGO – восстановленный оксид графена; TBO@rGO – То-луидиновый синий О (ТВО) и восстановленный оксид графена (rGO); GCE – СУЭ; TsPro-Cs – хитозан, функционализированный N-тозилпролином; β -CD/EG – β -циклодекстрин/этиленгликоль; PEC – ПЭК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Simmons R.L., Owen S., Abbott C.J., Bouchier-Hayes T.A., Hunt H.A. Naproxen sodium and paracetamol/dextropropoxyphene in sports injuries – a multicenter comparative study // Br. J. Sports Med. 1982. V. 16. № 2. P. 91. <https://doi.org/10.1136/bjsm.16.2.91>
2. Fathi M., Zare M.A., Bahmani H.R., Zehtabchi S. Comparison of oral oxycodone and naproxen in soft tissue injury pain control: A double-blind randomized clinical trial // Am. J. Emerg. Med. 2015. V. 33. № 9. P. 1205. <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2015.05.021>
3. Todd P.A., Clissold S.P. Naproxen. A reappraisal of its pharmacology, and therapeutic use in rheumatic diseases and pain states // Drugs. 1990. V. 40. № 1. P. 91. <https://doi.org/10.2165/00003495-199040010-00006>
4. Клинические рекомендации по диагностике и лечению анкилозирующего спондилита (болезнь Бехтерева). М.: Общероссийская общественная организация Ассоциация ревматологов России, 2013. С. 21.
5. Lefebvre G., Pinsonneault O., Antao V., Black A.Y. Primary dysmenorrhea consensus guideline // JOGS. 2006. V. 27. № 12. P. 1117.
6. Коренная В.В. НПВП в лечении пациенток с первичной дисменореей // Гинекология. 2015. Т. 17. № 1. С. 55.
7. Roddy E., Clarkson K., Blagojevic-Bucknall M., Mehta R., Oppong R., Avery A., Hay E.M., Heneghan C., Hartshorne L., Hooper J., Hughes G., Jowett S., Lewis M., Little P., McCartney K., Mahtani K.R., Nunan D., Santer M., Williams S., Mallen C.D. Open-label randomised pragmatic trial (CONTACT) comparing naproxen and low-dose colchicine for the treatment of gout flares in primary care // Ann. Rheum. Dis. 2020. V. 79. № 2. P. 276. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2019-216154>
8. Чичасова Н.В. Нестероидные противовоспалительные препараты в лечении остеоартрита: проблема выбора с учетом безопасности и влияния на хрящ // Consilium Medicum. 2017. Т. 19. № 9. С. 122. https://doi.org/10.26442/2075-1753_19.9.122-128
9. Chu S.C., Yang S.F., Lue K.H., Hsieh Y.-S., Li T.-J., Lu K.-H. Naproxen, meloxicam and methylprednisolone inhibit urokinase plasminogen activator and inhib-

- itor and gelatinases expression during the early stage of osteoarthritis // *Clin. Chim. Acta*. 2008. V. 387. № 1–2. P. 90.
<https://doi.org/10.1016/j.cca.2007.09.012>
10. Каратеев Д.Е., Лучихина Е.Л. Медикаментозная терапия болевого синдрома у больных артритом // *Эффективная фармакотерапия*. 2018. № 33. С. 26.
 11. Xu Y.L., Liu Z.S., Wang H.F., Yan C., Gao R.Y. Chiral recognition ability of an (S)-naproxen-imprinted monolith by capillary electrochromatography // *Electrophoresis*. 2005. V. 26. P. 804.
<https://doi.org/10.1002/elps.200410171>
 12. Li J., Yu T., Xu G., Du Y., Liu Z., Feng Z., Yang X., Xi Y., Liu J. Synthesis and application of ionic liquid functionalized β -cyclodextrin, mono-6-deoxy-6-(4-amino-1,2,4-triazolium)- β -cyclodextrin chloride, as chiral selector in capillary electrophoresis // *J. Chromatogr. A*. 2018. V. 1559. P. 178.
<https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2017.11.068>
 13. Cao S., Xie C., Ma Q., Wang S., Zhang J., Wang Z. Enantioselective separation of nonsteroidal anti-inflammatory drugs with amylose tris(3-chloro-5-methylphenylcarbamate) stationary phase in HPLC with a focus on enantiomeric quality control in six pharmaceutical formulations containing racemic mixtures or single stereoisomers // *Chirality*. 2021. V. 33. № 12. P. 938.
<https://doi.org/10.1002/chir.23369>
 14. Gonçalves L., Cravo S., Fernandes C., Tiritan M.E. Development and evaluation of Pirkle-type chiral stationary phase for flash chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2022. V. 1675. Article 463156.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.463156>
 15. Xiang C., Liu G., Kang S., Guo X., Yao B., Weng W., Zeng Q. Unusual chromatographic enantioseparation behavior of naproxen on an immobilized polysaccharide-based chiral stationary phase // *J. Chromatogr. A*. 2011. V. 1218. № 48. P. 8718.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.10.014>
 16. Papp L.-A., Krizbai S., Dobó M., Hancu G., Szabó Z.-I., Tóth G. Determination of chiral impurity of naproxen in different pharmaceutical formulations using polysaccharide-based stationary phases in reversed-phased mode // *Molecules*. 2022. V. 27. № 9. P. 2986.
<https://doi.org/10.3390/molecules27092986>
 17. Tran C.D., Oliveira D. Fluorescence determination of enantiomeric composition of pharmaceuticals via use of ionic liquid that serves as both solvent and chiral selector // *Anal. Biochem.* 2006. V. 356. P. 51.
<https://doi.org/10.1016/j.ab.2006.06.026>
 18. Tashkhourian J., Afsharinejad M. Chiral recognition of naproxen enantiomers using starch capped silver nanoparticles // *Anal. Methods*. 2016. V. 8. P. 2251.
<https://doi.org/10.1039/C5AY03021H>
 19. Dehghani Z., Akhond M., Absalan G. Carbon quantum dots embedded silica molecular imprinted polymer as a novel and sensitive fluorescent nanoprobe for reproducible enantioselective quantification of naproxen enantiomers // *Microchem. J.* 2021. V. 160. Article 105723.
<https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2020.105723>
 20. Afkhami A., Kafrashi F., Ahmadi M., Madrakian T. A new chiral electrochemical sensor for the enantioselective recognition of naproxen enantiomers using L-cysteine self-assembled over gold nanoparticles on a gold electrode // *RSC Adv.* 2015. V. 5. № 72. P. 58609.
<https://doi.org/10.1039/c5ra07396k>
 21. Jafari M., Tashkhourian J., Absalan G. Electrochemical chiral recognition of naproxen using L-cysteine/reduced graphene oxide modified glassy carbon electrode // *Anal. Bioanal. Chem. Res.* 2020. V. 7. № 1. P. 1.
<https://doi.org/10.22036/ABCR.2019.155898.1274>
 22. Guo L., Huang Y., Zhang Q., Chen C., Guo D., Chen Y., Fu Y. Electrochemical sensing for naproxen enantiomers using biofunctionalized reduced graphene oxide nanosheets // *J. Electrochem. Soc.* 2014. V. 161. № 4. P. B70.
<https://doi.org/10.1149/2.075404jes>
 23. Zagitova L.R., Yarkaeva Y.A., Zagitov V.V., Nazyrov M.I., Gainanova S., Maistrenko V.N. Voltammetric chiral recognition of naproxen enantiomers by N-tosylproline functionalized chitosan and reduced graphene oxide based sensor // *J. Electroanal. Chem.* 2022. V. 922. Article 116744.
<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2022.116744>
 24. Ebrahimi S., Afkhami A., Madrakian T. Target-responsive host-guest binding driven dual-sensing readout for enhanced electrochemical chiral analysis // *The Analyst*. 2021. V. 146. № 15. P. 4865.
<https://doi.org/10.1039/d1an00795e>
 25. Zilberg R.A., Berestova T.V., Gizatov R.R., Teres Y.B., Galimov M.N., Bulysheva E.O. Chiral selectors in voltammetric sensors based on mixed phenylalanine/alanine Cu(II) and Zn(II) complexes // *Inorganics*. 2022. V. 10. № 117.
<https://doi.org/10.3390/inorganics10080117>
 26. Montes R.H.O., Stefano J.S., Richter E.M., Munoz R.A.A. Exploring multiwalled carbon nanotubes for naproxen detection // *Electroanalysis*. 2014. V. 26. № 7. P. 1449.
<https://doi.org/10.1002/elan.201400113>
 27. Майстренко В.Н., Зильберг Р.А. Энантиоселективные вольтамперометрические сенсоры на основе хиральных материалов // *Журн. аналит. химии*. 2020. Т. 75. № 12. С. 1080.
<https://doi.org/10.31857/S0044450220120105>
 28. Zou J., Zhao G.-Q., Zhao G.-L., Yu J.-G. Fast and sensitive recognition of enantiomers by electrochemical chiral analysis: Recent advances and future perspectives // *Coord. Chem. Rev.* 2022. V. 471. Article 214732,
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2022.214732>
 29. Salinas G., Niamlaem M., Kuhn A., Arnaboldi S. Recent advances in electrochemical transduction of chiral information // *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2022. V. 61. Article 101626.
<https://doi.org/10.1016/j.cocis.2022.101626>
 30. Gumus E., Bingol H., Zor E. Nanomaterials-enriched sensors for detection of chiral pharmaceuticals // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2022. V. 221. Article 115031.
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2022.115031>
 31. Upadhyay S.S., Gadhari N.S., Srivastava A.K. Biomimetic sensor for ethambutol employing β -cyclodextrin mediated chiral copper metal organic framework and carbon nanofibers modified glassy carbon electrode // *Biosens. Bioelectron.* 2020. V. 165. Article 112397.
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112397>

32. Зильберг Р.А., Майстренко В.Н., Яркаяева Ю.А., Дубровский Д.И. Энантиоселективная вольтамперометрическая сенсорная система для распознавания D и L-триптофана на основе стеклоуглеродных электродов, модифицированных композитами полиарилефталата с α -, β - и γ -циклодекстринами // Журн. аналит. химии. 2019. Т. 74. С. 941. (Zil'berg R.A., Maistrenko V.N., Yarkaeva Y.A., Dubrovskii D.I. An enantioselective voltammetric sensor system based on glassy carbon electrodes modified by polyarylenephthalide composites with α -, β -, and γ -cyclodextrins for recognizing D- and L-tryptophans // J. Anal. Chem. 2019. V. 74. P. 1245.)
<https://doi.org/10.1134/S0044450219110136>
33. Zilberg R.A., Maistrenko V.N., Kabirova L.R., Dubrovskiy D.I. Selective voltammetric sensors based on composites of chitosan polyelectrolyte complexes with cyclodextrins for the recognition and determination of atenolol enantiomers // Anal. Methods. 2018. V. 10. № 16. P. 1886.
<https://doi.org/10.1039/c8ay00403j>
34. Kingsford O.J., Zhang D., Ma Y., Wu Y., Zhu G. Electrochemically recognizing tryptophan enantiomers based on carbon black/poly-L-cysteine modified electrode // J. Electrochem. Soc. 2019. V. 166. № 13. P. B1226.
<https://doi.org/10.1149/2.0791913jes>
35. Stoian I.A., Iacob B.C., Ramalho J.P.P., Marian I.O., Chiş V., Bodoki E., Oprean R. A chiral electrochemical system based on L-cysteine modified gold nanoparticles for propranolol enantiodiscrimination: Electroanalysis and computational modeling // Electrochim. Acta. 2019. V. 326. Article 134961.
<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.134961>
36. Kour R., Arya S., Young S.-J., Gupta V., Bandhorja P., Khosla A. Review-recent advances in carbon nanomaterials as electrochemical biosensors // J. Electrochem. Soc. 2020. V. 167. № 3. Article 037555.
<https://doi.org/10.1149/1945-7111/ab6bc4>
37. Майстренко В.Н., Евтюгин Г.А. Энантиоселективные сенсоры. М.: Лаборатория знаний, 2023. 259 с.
38. Яркаяева Ю.А., Дубровский Д.И., Зильберг Р.А., Майстренко В.Н., Корнилов В.М. Вольтамперометрический сенсор на основе композита 3,4,9,10-перилентетракарбоновой кислоты для распознавания и определения энантиомеров тирозина // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 12. С. 1108.
<https://doi.org/10.31857/S0044450220110146>
39. Зильберг Р.А., Терес Ю.Б., Загитова Л.Р., Яркаяева Ю.А., Берестова Т.В. Вольтамперометрический сенсор на основе аминокислотного комплекса меди(II) для определения энантиомеров триптофана // Аналит. и контроль. 2021. Т. 25. № 3. С. 193.
<https://doi.org/10.15826/analitika.2021.25.3.006>
40. Sapelnikova S., Dock E., Ruzgas T., Emnéus J. Amperometric sensors based on tyrosinase-modified screen-printed arrays // Talanta. 2003. V. 61. № 4. P. 473.
[https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(03\)00314-X](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(03)00314-X)
41. Cejka J., Corma A., Zones S. Zeolites and Catalysis: Synthesis, Reactions and Applications. Weinheim: Wiley-VCH, 2010. P. 918.
<https://doi.org/10.1002/9783527630295>
42. Vermeiren W., Gilson J.-P. Impact of zeolites on the petroleum and petrochemical industry // Topics in Catalysis. 2009. V. 52. P. 1131.
<https://doi.org/10.1007/s11244-009-9271-8>
43. Pérez-Botella E., Valencia S., Rey F. Zeolites in adsorption processes: State of the art and future prospects // Chem. Rev. 2022. V. 122. № 24. P. 17647.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.2c00140>
44. Колесов С.В., Гурина М.С., Мударисова Р.Х. Об устойчивости водных нанодисперсий полиэлектролитных комплексов на основе хитозана и п-сукцинилхитозана // Высокомолекулярные соединения. Серия А. 2019. Т. 61. № 3. С. 195.
<https://doi.org/10.1134/S2308112019030076>
45. Колесов С.В., Гурина М.С., Мударисова Р.Х. Закономерности и особенности образования водных нанодисперсий интерполиэлектролитных комплексов на основе хитозана и сукцинамида хитозана // Журн. общ. химии. 2018. Т. 88. № 8. С. 1376.
<https://doi.org/10.1134/S0044460X1808022X>
46. Kim D.S.H.L., Chen Z., Nguyen van T., Pezzuto J.M., Qiu S., Lu Z.-Z. A Concise semi-synthetic approach to betulinic acid from betulin // Synth. Commun. 1997. V. 27. № 9. P. 1607.
<https://doi.org/10.1080/00397919708006099>
47. Urban M., Sarek J., Klinot J., Korinkova G., Hajduch M. Synthesis of A-Seco derivatives of betulinic acid with cytotoxic activity // J. Nat. Prod. 2004. V. 67. № 7. P. 1100.
<https://doi.org/10.1021/np049938m>
48. Spivak A.Y., Gubaidullin R.R., Galimshina Z.R., Nedopekina D.A., Odinokov V.N. Effective synthesis of novel C(2)-propargyl derivatives of betulinic and ursolic acids and their conjugation with β -d-glucopyranoside azides via click chemistry // Tetrahedron. 2016. V. 72. № 9. P. 1249.
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2016.01.024>
49. Agliullin M.R., Khairullina Z.R., Faizullin A.V. Selective crystallization of aluminophosphate molecular sieves with an AEL structure // Catal. Ind. 2019. V. 11. № 1. P. 1.
<https://doi.org/10.1134/s2070050419010021>
50. Bard A.J., Faulkner L.R. Electrochemical Methods. Fundamentals and Application. 2nd Ed. N.Y.: Wiley, 2004. P. 864.
51. Molecular Visualization and Simulation Program Package. Gainesville, FL: Hypercube, 1995. P. 32601.