

УДК 543.866

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИ ОСАЖДЕННЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ЗОЛОТА НА УГЛЕРОДНЫХ НАНОМАТЕРИАЛАХ И ТИАКАЛИКСАРЕНАХ В СОСТАВЕ ИММУНОСЕНСОРОВ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ТРИЦИКЛИЧЕСКИХ АНТИДЕПРЕССАНТОВ

© 2025 г. Д. В. Брусницын^{a,*}, А. Н. Рамазанова^a, Э. П. Медянцева^a,
Э. Р. Рамазанова^b, А. В. Прыткова^a, Э. Р. Каримова^c, М. А. Зиганшин^a,
В. А. Бурилов^a, Е. Г. Макаров^a, Т. Л. Хамидуллин^a

^aКазанский (Приволжский) федеральный университет, Химический институт им. А.М. Бутлерова
ул. Кремлевская, 18, Казань, 420008 Россия

^bКазанский национальный исследовательский технологический университет,
Институт нефти, химии и нанотехнологий
ул. К. Маркса, 68, Казань, 420015 Россия

^cГАУЗ “Межрегиональный клинико-диагностический центр”
ул. Карбышева, 12а, Казань, 420101 Россия

*E-mail: brussman@mail.ru

Поступила в редакцию 11.10.2024 г.

После доработки 06.11.2024 г.

Принята к публикации 06.11.2024 г.

Предложены композитные материалы на основе электрохимически осажденных наночастиц золота, полученных в режиме циклической вольтамперометрии и хроноамперометрии, на углеродной подложке из функционализированного оксида графена, восстановленного оксида графена и бумаги из углеродных нанотрубок. Проведен скрининг композитных материалов методами атомно-силовой микроскопии, спектроскопии электрохимического импеданса и вольтамперометрия, что позволило выбрать лучшие в качестве модификаторов планарных электродов, на основе которых разработаны высокочувствительные иммуносенсоры. Для лучших амперометрических иммуносенсоров на основе сочетания углеродной бумаги, амино(тиа)каликс[4]арена и наночастиц золота при определении амитриптилина и дезипрамина область рабочих концентраций составила 1×10^{-9} – 1×10^{-4} М, нижняя граница определяемых концентраций – $(4–6) \times 10^{-10}$ М. Амитриптилин и дезипрамин определены амперометрическими иммуносенсорами в фармацевтических препаратах с относительным стандартным отклонением, не превышающим 0.040. Сопоставление результатов определения трициклических антидепрессантов иммуносенсорами и поляризационным флуоресцентным иммуноанализом в моче человека с относительным стандартным отклонением, не превышающим 0.085, указывает на правильность и сходимость полученных результатов.

Ключевые слова: наночастицы золота, оксид графена, восстановленный оксид графена, углеродная бумага, амино(тиа)каликс[4]арен, иммуносенсор, трициклические антидепрессанты.

DOI: 10.31857/S0044450225030077 EDN: agcqfk

Мониторинг лекарственных веществ в биологических объектах требует высокочувствительных и селективных способов анализа. Такие характеристики могут быть обеспечены различными иммуносенсорами, которые обладают коротким временем отклика и практически не требуют пробоподготовки, что дает существенное преимущество по сравнению

с другими вариантами определения. Специфичность взаимодействия в этом случае основана на использовании комплементарной пары антиген (Ag)–антитело (Ab) [1–3].

Определение трициклических антидепрессантов, которые применяются при лечении депрессивных состояний и являются препаратами строгого учета [4], остается актуальной задачей.

Для определения трициклических антидепрессантов ранее предложены различные методы: хроматографические [5–11], микроэкстракция [12–15], электрохроматография [16] капиллярный электрофорез [17]. Авторы работ [18, 19] использовали полимеры с молекулярными отпечатками. Новые возможности при определении антидепрессантов связаны с моноаминоксидазными [20] и иммуносенсорами [21, 22]. Моноаминоксидазные биосенсоры позволили получить селективный отклик в области концентраций от 1×10^{-8} до 1×10^{-4} М. Имеются единичные примеры использования для этих целей иммуносенсоров на основе модифицированных электродов [23, 24]. В настоящее время наиболее часто для модификации поверхности электродов используют углеродные наноматериалы [25–28] и наночастицы металлов [29–32]. Наиболее доступными и удобными способами закрепления наноматериалов на поверхности электродов являются электрохимические методы, обладающие такими преимуществами, как возможность управлять размером частиц, получаемых на поверхности электрода, и более прочно их удерживать [33, 34].

Макроциклические соединения на основе тиакаликсаренов и их производных в общем случае хорошо себя зарекомендовали в качестве модификаторов электродов при создании электрохимических сенсоров. Так, терминированный аминогруппами тиакаликс[4]арен продемонстрировал увеличение чувствительности при определении ДНК [35]. Электрополимеризация фенотиазина в присутствии полиаминоамидных производных тиакаликс[4]арена дала возможность в 1.5 раза увеличить чувствительность биосенсора к мочевой кислоте [36], а ковалентная функционализация углеродных нанотрубок тиакаликсареном позволила получить сенсор для определения сверхнизкого (4×10^{-11} М) содержания свинца(II). Все это указывает на перспективность перечисленных выше материалов для совершенствования поверхности сенсоров с целью придания им заданных свойств.

Большими возможностями в плане расширения диапазона определяемых концентраций и понижения нижней границы определяемых содержаний лекарственных веществ обладают композитные материалы на основе углеродных наноматериалов, в частности аминифункционированного оксида графена (ГО-NH₂), восстановленного оксида графена (ВГО) [20, 21] в комплексе с наночастицами металлов [23, 24].

Следует отметить, что ранее в качестве модификаторов поверхности электродов как основы биосенсоров не использовали макроциклические соединения на основе тиакаликс[4]аренов и их производных в комплексе с углеродными наноматериалами и наночастицами металлов.

Весьма перспективными для определения лекарственных препаратов в составе амперометрических иммуносенсоров оказались новые углеродные материалы, в частности бумага из углеродных нанотрубок [37–40]. Композитные материалы на основе бумаги из углеродных нанотрубок, производных тиакаликс[4]аренов и наночастиц золота (НЧАu) могут обеспечить дополнительные возможности для улучшения аналитических характеристик иммуносенсоров. Литературные данные о применении данных композитных материалов в составе биосенсоров практически отсутствуют.

Цель настоящей работы заключалась в оценке аналитических возможностей электрохимически осажденных наночастиц золота на аминотиакаликс[4]арене и углеродной подложке из оксида графена, восстановленного оксида графена, бумаге из углеродных нанотрубок в составе иммуносенсоров для определения трициклических антидепрессантов (на примере amitриптилина и дезипрамина) в фармацевтических препаратах и моче.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Основой иммуносенсора служила система, состоящая из графитового рабочего и вспомогательного электродов, электрода сравнения (Ag/AgCl), полученная на полимерной подложке методом печатных технологий (получены на кафедре аналитической химии Казанского (Приволжского) федерального университета (КФУ) и на фирме “Элком”, Россия) [24]. Электрохимические измерения проводили с помощью потенциостата/гальваностата 204N с модулем электрохимического импеданса FRA32M (Autolab, Нидерланды). Циклические и дифференциально-импульсные вольтамперограммы получали в программе Nova в диапазоне потенциалов от 0.0 до 1.5 В, варьируя скорость сканирования и амплитуду. Условия регистрации диаграмм Найквиста: частота 0.04–10⁵ Гц, амплитуда 5 мВ. Результаты измерений импеданса интерпретировали с помощью эквивалентной схемы Рэндлса. Изображения, полученные методом атомно-силовой микроскопии (АСМ), регистрировали на атомно-силовом микроскопе Titanium (НТ-МДТ, Россия). Изображения обрабатывали и анализировали с помощью программы Image Analysis (НТ-МДТ, Россия). Погрешность составила 5 % по латеральному размеру и менее 1 нм по высоте.

В качестве модификаторов поверхности применяли углеродные наноматериалы (ВГО, ГО-NH₂) и НЧАu, полученные электрохимически из 3 % (w/v) раствора H₂AuCl₄ (приготовлен из препарата х. ч.). Для получения дисперсии ВГО (Sigma Aldrich, США) в хитозане

с концентрацией 2 мг/мл навеску ВГО помещали в пробирку типа Эппендорф и добавляли аликвоту 2 %-ного (w/v) уксуснокислого раствора хитозана, после чего обрабатывали ультразвуком в течение 2 ч при 75°C. ГО-NH₂ (Sigma Aldrich, США) использовали в виде водной дисперсии (2 мг/мл).

Модификация поверхности графитовых печатных электродов электрохимически осажденными НЧАу. В электрохимическую ячейку вносили аликвоту 3 %-ного (w/v) раствора HAuCl₄, довели до нужного объема (2 мл) ацетатным буферным раствором с рН 3.8 или 4.3, после чего погружали в раствор графитовый электрод. Используя режимы циклической вольтамперометрии (ЦВА) в диапазоне потенциалов от 0.0 до 1.5 В при скорости сканирования 20 и 100 мВ/с и при числе циклов 10, а также хроноамперометрии (60 с, $E = -0.2$ В) получали НЧАу.

Модификация поверхности электродов электрохимически осажденными НЧАу в сочетании с углеродными материалами. В электрохимическую ячейку помещали аликвоты 3 %-ного (w/v) раствора HAuCl₄ и ацетатного буферного раствора с рН 4.3, затем опускали электрод, модифицированный дисперсией углеродного материала (ВГО, ГО-NH₂) в хитозане (2 мг/мл) методом капельного испарения, на этой поверхности получали НЧАу в режимах ЦВА (в диапазоне потенциалов от 0.0 до 1.5 В при скорости сканирования 20 мВ/с и числе циклов 10) и хроноамперометрии (60 с, $E = -0.2$ В).

Бумагу из углеродных нанотрубок (БУНТ) синтезировали в лаборатории “Перспективные углеродные наноматериалы” (Химический институт, КФУ): БУНТ 1 – бумага с массовым эквивалентом 0.8 (по KMnO₄), неотожженная в печи; БУНТ 2 – бумага с массовым эквивалентом 0.9 (по KMnO₄), неотожженная в печи; БУНТ 3 – бумага с массовым эквивалентом 0.8 (по KMnO₄), неотожженная в печи; БУНТ 4 – бумага с массовым эквивалентом 0.9 (по KMnO₄), отожженная в печи при 600°C.

Макроциклическое соединение – 5,11,17, 23-тетра-*трет*-бутил-25,27-дибутоксид-26, 28-бис{3-(4-[2-(*трет*-бутоксикарбониламин)этил]аминометил-1,2,3-триазол-1-ил)пропокси}-2,8,14,20-тетраэтилкаликс[4]арена гексагидрохлорид (брутто формула C₆₈H₁₁₂N₁₂O₄S₄Cl₆) – синтезировано и охарактеризовано в лаборатории кафедры органической и медицинской химии Химического института КФУ [41].

Объектами анализа являлись лекарственные вещества дезипрамина гидрохлорид (3-(10,11-дигидро-5Н-добенз[b,f]азепин-5-ил)-N-метилпропан-1-амин гидрохлорид) и амитриптилина гидрохлорид (3-(10,11-дигидро-5Н-добенз[a,d]циклогептен-5-илиден)-N,N-диметил-1-пропанамина гидрохлорид) (Sigma Aldrich, США),

входящие соответственно в состав таких препаратов, как Петилил (AWD, Германия) и Амитриптилин (ЗиО-Здоровье, Россия).

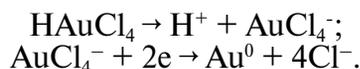
Образец урины человека, содержащий амитриптилин, был предоставлен Институтом фундаментальной медицины и биологии (КФУ).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Современные наноматериалы известны своими уникальными свойствами: высокой прочностью и твердостью, электронными свойствами и др., что может быть использовано при разработке электрохимических биосенсорных устройств. Различные сочетания наноструктурированных материалов, в том числе полученные в различных условиях (рН среды, способ осаждения и т.д.), в разной степени влияют на аналитические характеристики сенсоров [42, 43]. Для выбора лучших вариантов преобразования электродной поверхности изучали перспективные композитные модификаторы на основе НЧАу и углеродных наноматериалов электрохимическими методами анализа.

Каждый из материалов выполняет свою функцию в составе модификаторов поверхности электрода: углеродные материалы обеспечивают увеличение удельной площади поверхности электрода и в отдельных случаях увеличение электропроводности подложки, а электроактивность НЧАу в сочетании с антителами может быть использована в качестве аналитического сигнала иммуносенсора [44, 45].

Электрохимическое получение НЧАу на поверхности планарного электрода путем многократного циклирования потенциала (методика описана в “Экспериментальной части”) с варьированием скорости наложения потенциала при разных рН иллюстрируют рис. 1 и табл. 1. Электрохимический процесс может быть описан следующей схемой [46]:



На вольтамперограммах наблюдается пара анодно-катодных пиков, разность потенциалов которых указывает на квазиобратимый процесс ($\Delta E = 500$ мВ при рН 3.8; $\Delta E = 450$ мВ при рН 4.3).

Варьирование скорости сканирования (ЦВА) от 10 до 100 мВ/с (табл. 1) позволило получить хорошо выраженный аналитический сигнал НЧАу при потенциале 1.1 В. В присутствии ацетатного буферного раствора с рН 4.3 сигнал НЧАу достигает более высоких значений тока пика по сравнению с ацетатным буферным раствором с рН 3.8.

Изменение электрохимических характеристик электрода, модифицированного НЧАу,

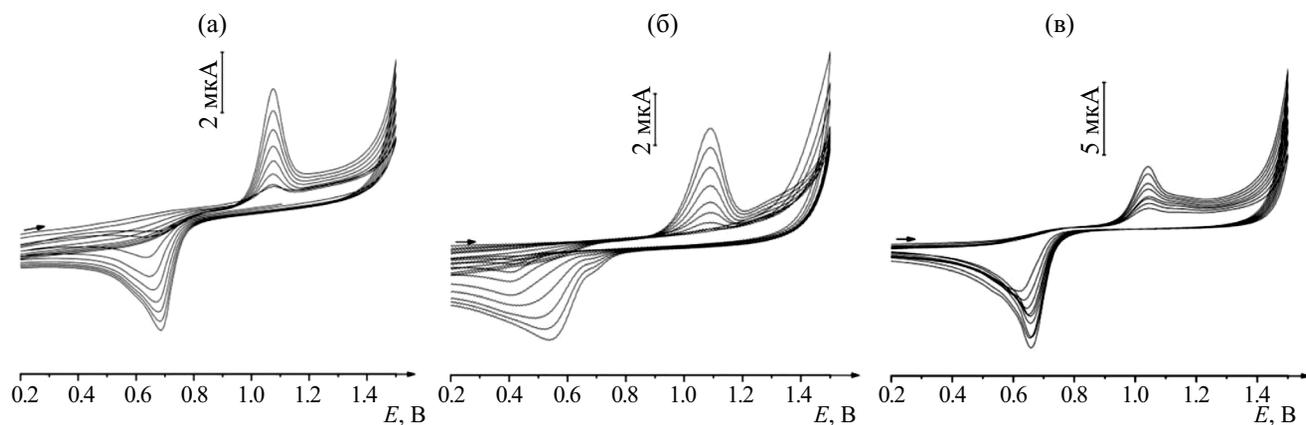


Рис. 1. Циклические вольтамперограммы получения НЧАи на поверхности электрода: (а) 20 мВ/с, 10 циклов, ацетатный буферный раствор с рН 3.8; (б) 100 мВ/с, 10 циклов, ацетатный буферный раствор с рН 3.8; (в) 20 мВ/с, 10 циклов, ацетатный буферный раствор с рН 4.3.

Таблица 1. Влияние скорости сканирования в режиме циклической вольтамперометрии на электрохимические характеристики модифицированного электрода (ацетатный буферный раствор с рН 4.3)

V , мВ/с	E_a , мВ	I_a , мкА	E_k , мВ	I_k , мкА
10	1055 ± 10	4.3 ± 0.2	672 ± 8	-2.42 ± 0.09
50	1076 ± 15	12.6 ± 0.6	654 ± 5	-8.80 ± 0.09
100	1084 ± 15	28.3 ± 0.9	649 ± 5	-1.46 ± 0.08

в ацетатном буферном растворе с рН 3.8 при варьировании времени (от 30 до 180 с) хроноамперометрического получения НЧАи показано в табл. 2. Выбрали рабочее время осаждения 60 с, что позволяет достичь хорошо выраженной величины тока пика.

Ток окисления НЧАи, синтезированных электрохимически, является стабильным и воспроизводимым. Сравнение аналитического сигнала (окисление НЧАи, полученных различными электрохимическими способами) показало, что наибольший по току отклик наблюдается для вольтамперометрически полученных НЧ (табл. 1 и 2).

На рис. 2 и 3 представлены циклические вольтамперограммы в ацетатном буферном растворе с рН 4.3 в диапазоне потенциалов от 0.2 до 1.5 В при варьировании скорости развертки от 10 до 150 мВ/с, полученные на электродах, поверхность которых модифицирована электрохимически осажденными НЧАи в сочетании с ВГО и ГО- NH_2 соответственно. Сопоставление результатов, полученных для электродов, модифицированных НЧАи и НЧАи в сочетании с ВГО, показало, что ток окисления НЧАи увеличивается примерно в 10 раз в присутствии ВГО на поверхности планарного электрода (рис. 2). Это может быть связано с электропроводящими свойствами

Таблица 2. Влияние времени осаждения при хроноамперометрическом получении НЧАи на электрохимические характеристики модифицированного электрода (ацетатный буферный раствор с рН 4.3)

t , с	E_a , мВ	I_a , мкА	E_k , мВ	I_k , мкА
30	1069 ± 10	2.96 ± 0.09	684 ± 8	-1.07 ± 0.02
60	1066 ± 10	9.26 ± 0.09	490 ± 6	-3.32 ± 0.09
90	1059 ± 10	2.00 ± 0.05	461 ± 6	-2.04 ± 0.05
180	1049 ± 10	9.52 ± 0.09	468 ± 6	-8.83 ± 0.09

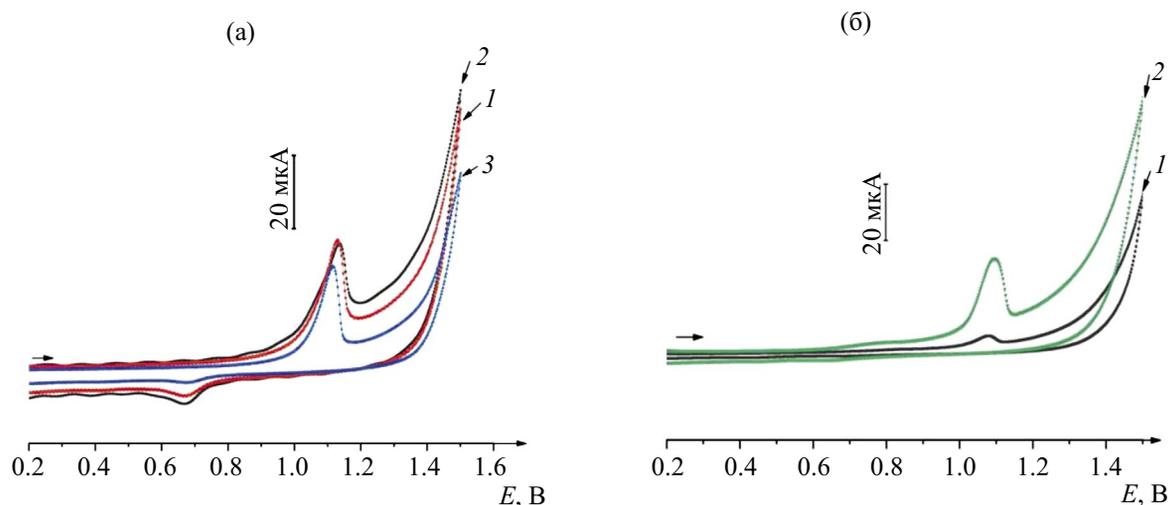


Рис. 2. Циклические вольтамперограммы в ацетатном буферном растворе с рН 4.3 электрода, модифицированного ВГО/НЧАу в режиме: (а) циклической вольтамперометрии, V , мВ/с: 1 – 50; 2 – 100; 3 – 150; (б) хроноамперометрии, $t = 60$ с, V – 10 мВ/с; 2 – 25 мВ/с.

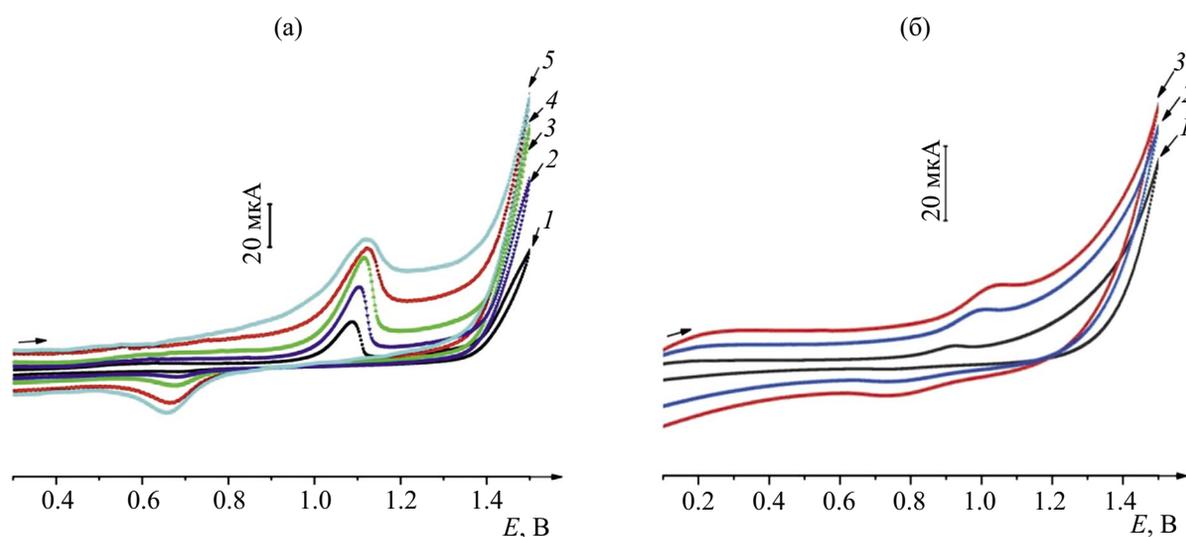


Рис. 3. Циклические вольтамперограммы в ацетатном буферном растворе с рН 4.3 электрода, модифицированного ГО- NH_2 /НЧАу в режиме: (а) циклической вольтамперометрии, V , мВ/с: 1 – 10; 2 – 25; 3 – 50; 4 – 125; 5 – 150; (б) хроноамперометрии, $t = 60$ с, V , мВ/с: 1 – 10; 2 – 50; 3 – 100.

ВГО. Сопоставление вольтамперограмм (рис. 3) в ацетатном буферном растворе с рН 4.3 для электродов, модифицированных ГО- NH_2 /НЧАу, показало, что использование циклической вольтамперометрии увеличивает ток окисления НЧАу примерно в пять раз (рис. 3а).

Модификация поверхности электродов электрохимически осажденными НЧАу в сочетании с БУНТ и аминотиакаликс[4]ареном. Электроды, модифицированные перечисленными выше композитами в сочетании с электрохимически осажденными НЧАу, получали по тому же алгоритму, что и в предыдущих случаях

(см. “Экспериментальную часть”). Послойно наносили на поверхность электрода хитозан, БУНТ, водную дисперсию аминотиакаликс[4]арена (1×10^{-4} М), затем получали на такой модифицированной поверхности НЧАу. Закрепление на поверхности электрода БУНТ происходит, видимо, за счет адсорбционного взаимодействия с раствором хитозана. Использование же аминотиакаликс[4]арена за счет неспецифического взаимодействия (физической адсорбции) приводит к увеличению концентрации НЧАу при электрохимическом осаждении. Циклические вольтамперограммы (рис. 4), полученные

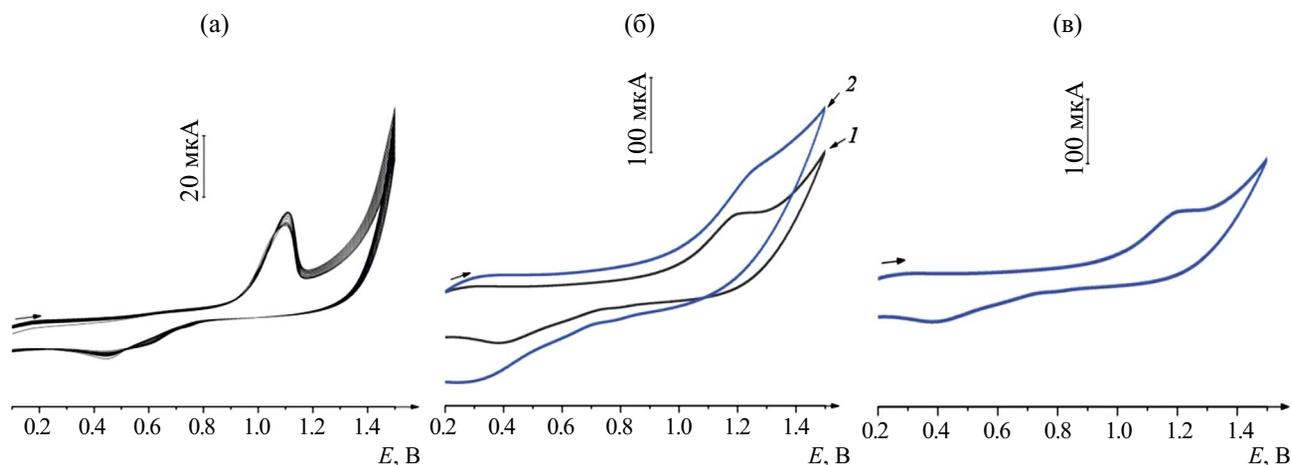


Рис. 4. Циклические вольтамперограммы в ацетатном буферном растворе с pH 3.8 электрода, модифицированного: (а) БУНТ 1/аминотиакаликс[4]арен(водн)/НЧАу: 1 – 10 мВ/с; 2 – 25 мВ/с; (б) БУНТ 1/аминотиакаликс[4]арен(водн)/НЧАу: 1 – 10 мВ/с; 2 – 25 мВ/с; (в) БУНТ 1/аминотиакаликс[4]арен(хит.)\НЧАу: 25 мВ/с.

на модифицированных таким способом электродах, показывают, что использование в качестве модификатора БУНТ/аминотиакаликс[4]арен/НЧАу приводит к увеличению тока пика НЧАу примерно в 20 раз (рис. 4), что может быть связано с увеличением электропроводности подложки за счет БУНТ. Полученные результаты и сделанные предположения подтвердили при исследовании свойств рассмотренных композитов другими методами.

Спектроскопия электрохимического импеданса (СЭИ). Для оценки сопротивления переноса электрона изучаемых модификаторов использовали метод СЭИ. Параметры электрохимического импеданса для некоторых покрытий приведены в табл. 3. Следует отметить, что сочетание компонентов в составе композитов в ряде случаев приводит к значительному уменьшению сопротивления переноса заряда, например в 3.4 раза для БУНТ 4/аминотиакаликс[4]арен(водн)/НЧАу по сравнению с аминотиакаликс[4]арен(водн)/НЧАу.

Атомно-силовая микроскопия. Изучение композитных материалов методом АСМ позволило определить размер частиц и параметры шероховатости поверхности электрода. При

модификации поверхности электрода композитными материалами происходит уменьшение параметров шероховатости, в частности при использовании ВГО/НЧАу с 32 до 11 нм, что свидетельствует о равномерном распределении модификатора по поверхности электрода (табл. 4, рис. 5). Наибольший перепад по высоте наблюдали для композитного материала аминотиакаликс[4]арен/НЧАу, что делает его весьма перспективным для разработки иммуносенсоров.

Получение иммуносенсоров. В качестве элемента биологического распознавания для амперометрических иммуносенсоров служили Ат против трициклических антидепрессантов. Закрепление Ат на модифицированной композитами поверхности электродов при сохранении их удельной каталитической активности проводили с помощью смеси для иммобилизации. Процедура иммобилизации подробно описана в работе [17].

Формирование устойчивого электрохимического отклика на вольтамперограммах, полученных на электродах, модифицированных ВГО/НЧАу, ГО-NH₂/НЧАу, БУНТ 1/аминотиакаликс[4]арен (хитозан)/НЧАу, БУНТ 4/аминотиакаликс[4]арен(водный)/НЧАу,

Таблица 3. Параметры импеданса модифицированных покрытий ($n = 5$, $P = 0.95$)

Состав модификатора	R_{ct} , Ом	C , мкФ
НЧАу	121 ± 5	1.03 ± 0.05
ВГО	170 ± 5	0.40 ± 0.05
ВГО/НЧАу	239 ± 10	3.91 ± 0.09
БУНТ 4	158 ± 5	3.43 ± 0.09
Аминотиакаликс[4]арен(хит)\НЧАу	202 ± 10	78 ± 5
Аминотиакаликс[4]арен(водн)\НЧАу	1980 ± 15	598 ± 15
БУНТ 4\аминотиакаликс[4]арен(водн)\НЧАу	583 ± 10	0.67 ± 0.05

Таблица 4. Параметры шероховатости поверхности модифицированного электрода ($n = 5, P = 0.95$)

Модификатор	$d, \text{нм}$	$R_a, \text{нм}$	$R_q, \text{нм}$
Чистый электрод	160 ± 10	35 ± 2	45 ± 2
ВГО-хитозан	55 ± 4	31 ± 2	39 ± 2
ГО-NH ₂ -хитозан	70 ± 5	22 ± 1	29 ± 1
НЧАu	60 ± 5	28 ± 2	38 ± 2
ВГО-хитозан\НЧАu	200 ± 10	11 ± 1	14 ± 1
ГО-NH ₂ -хитозан\НЧАu	180 ± 10	37 ± 2	46 ± 2
Аминотиакаликс[4]арен\НЧАu	128 ± 8	26 ± 2	34 ± 2

Примечание: d – размер частиц; R_q – среднее квадратичное значение отклонений профиля в пределах базовой длины; R_a – среднее арифметическое абсолютных значений отклонений профиля в пределах базовой длины.

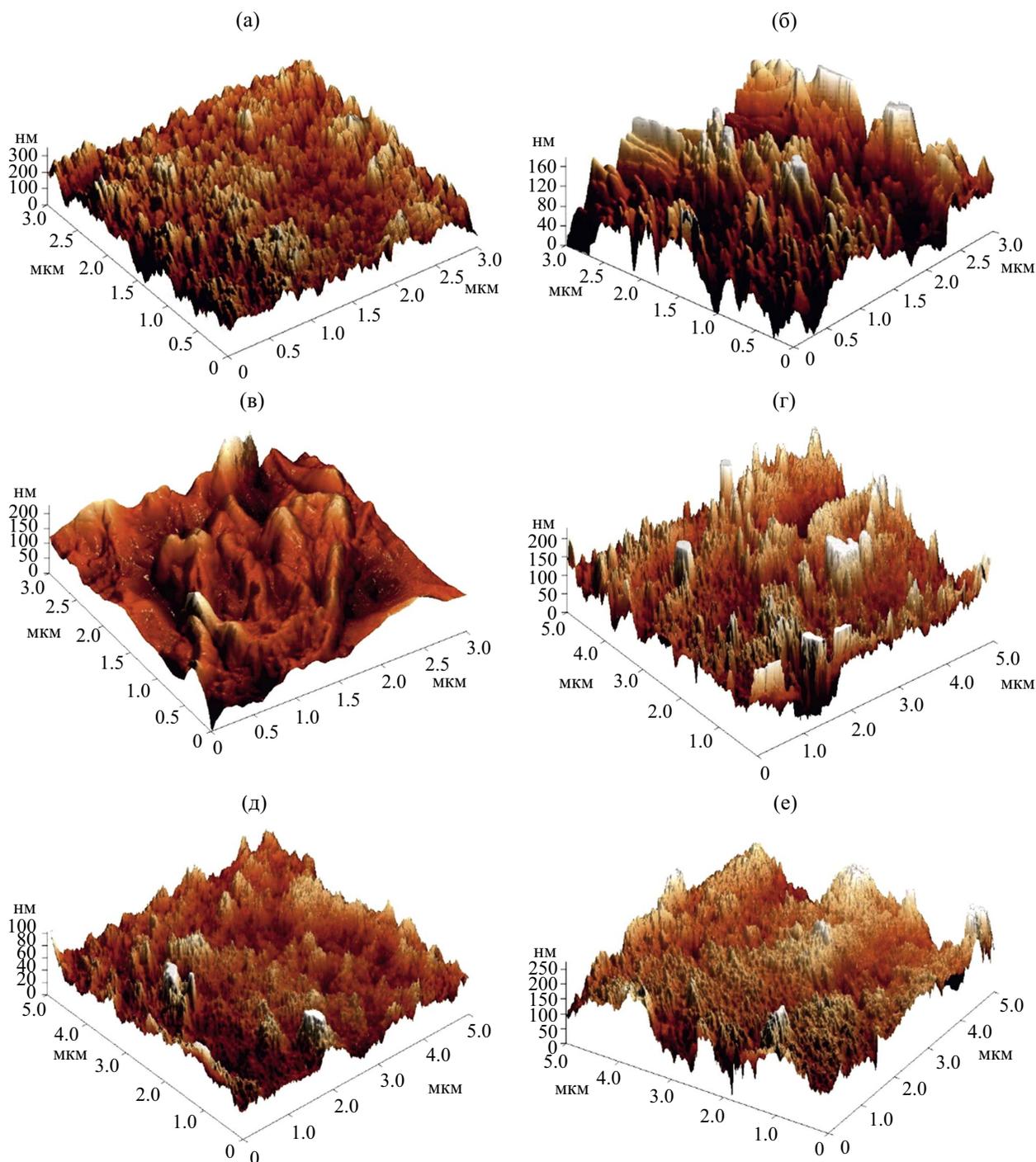


Рис. 5. АСМ-изображения в 3D проекциях поверхности электрода: (а) чистый электрод; (б) ВГО-хитозан; (в) ГО-NH₂-хитозан; (г) НЧАu; (д) ВГО/НЧАu; (е) аминотиакаликс[4]арен/НЧАu.

позволило использовать данные композитные материалы при разработке следующих амперометрических иммуносенсоров:

- иммуносенсор 1 – графитовый печатный электрод, модифицированный ВГО/НЧАу/Ат;
- иммуносенсор 2 – графитовый печатный электрод, модифицированный ГО-NH₂/НЧАу/Ат;
- иммуносенсор 3 – графитовый печатный электрод, модифицированный БУНТ 1/аминотиакаликс[4]арен(хит)/НЧАу/Ат;
- иммуносенсор 4 – графитовый печатный электрод, модифицированный БУНТ 4/аминотиакаликс[4]арен(водн)/НЧАу/Ат.

Более детально рассмотреть этот процесс можно на примере иммуносенсора 1. На поверхность электрода наносили капельным методом дисперсию ВГО в хитозане. После высыхания модификатора путем многократного циклирования потенциала электрохимически осаждали НЧАу. Затем на модифицированную поверхность наносили смесь для иммобилизации, содержащую специфичные Ат, хитозан, глутаровый альдегид и фосфатный буферный раствор с рН 7.5. Полученный иммуносенсор использовали для определения Аг (амитриптилина). Другие иммуносенсоров получали аналогично, используя описанные выше модифицирующие покрытия.

Выбор условий функционирования иммуносенсоров и природа формирования аналитического сигнала. Условия функционирования иммуносенсоров связаны с поиском наилучших условий реализации специфичного взаимодействия Аг (амитриптилин)–Ат. Для поиска рабочих условий функционирования иммуносенсора при определении амитриптилина варьировали разведение Ат. Для этого на поверхность планарного электрода с композитом ВГО/НЧАу наносили смесь для иммобилизации, содержащую Ат с разведением в диапазоне 1 : 50–1 : 200. Циклические вольтамперограммы регистрировали в фоновом растворе (ацетатный буферный раствор с рН 3.8) в диапазоне потенциалов от 0.0 до 1.5 В со скоростью сканирования 100 мВ/с (рис. 6а). Максимальный аналитический сигнал получили для разведения Ат в соотношении 1 : 200 (рис. 6а, кривая 2), которое использовали в дальнейшем для определения трициклических антидепрессантов амперометрическими иммуносенсорами.

В присутствии амитриптилина наблюдается уменьшение величины аналитического сигнала, что связано с взаимодействием Ат с Аг с образованием соответствующего иммунного комплекса амитриптилин–Ат на поверхности электрода и возможным созданием пространственных затруднений (рис. 6б).

Аналитические возможности амперометрических иммуносенсоров. Установили, что лучшими

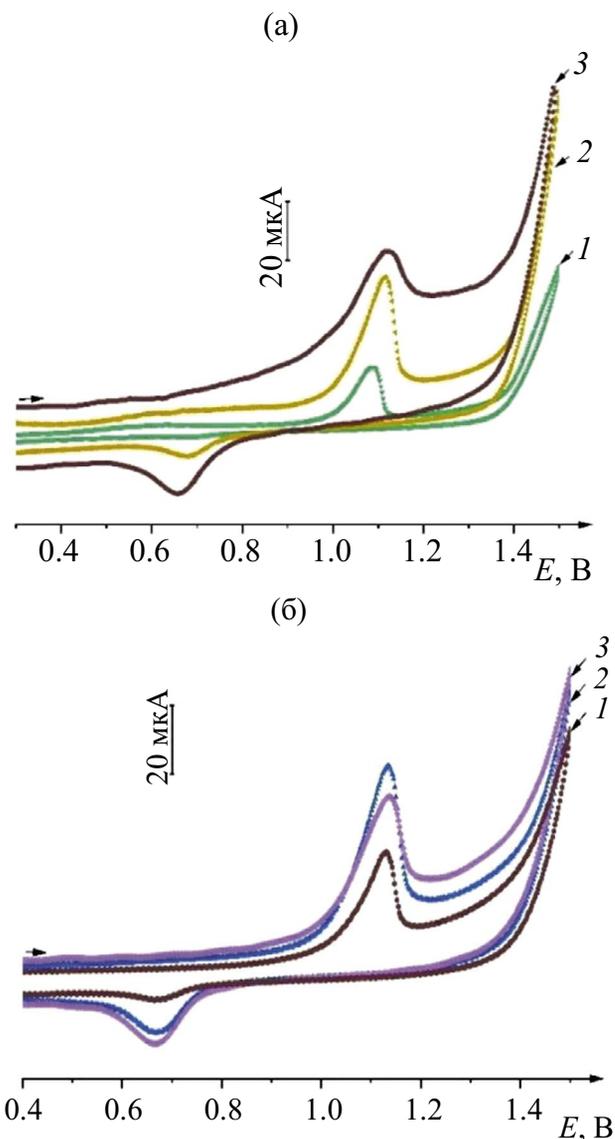


Рис. 6. Циклические вольтамперограммы электродов с модификаторами: (а) ВГО/НЧАу на фоне ацетатного буферного раствора с рН 3.8 в присутствии Ат с разведением 1 : 50 (1), 1 : 200 (2), 1 : 100 (3); (б) ВГО/НЧАу на фоне ацетатного буферного раствора с рН 3.8 в присутствии Ат (3), амитриптилина $c = 1 \times 10^{-7}$ М (2), амитриптилина $c = 1 \times 10^{-5}$ М (1). Разведение Ат 1 : 200, $V = 100$ мВ/с.

аналитическими характеристиками обладает иммуносенсор 4 (БУНТ 4/ аминотиакаликс[4]арен(водн)/НЧАу/Ат) при определении антидепрессантов (амитриптилин, дезипрамин): более широким диапазоном определяемых концентраций 1×10^{-9} – 1×10^{-4} М и более низкой границей определяемых содержаний (6×10^{-10} М) по сравнению с иммуносенсорами, модифицированными ВГО/НЧАу/Ат; ГО-NH₂/НЧАу/Ат; БУНТ 1/аминотиакаликс[4]арен(хит)/НЧАу/Ат (табл. 5).

Для проверки правильности результатов использовали способ введено–найдено. Относительно стандартное отклонение (s_r) не превышает 0.078 (табл. 6).

Таблица 5. Аналитические возможности разработанных иммуносенсоров при определении трициклических антидепрессантов (разведение A_t 1 : 200; $n = 5$; $P = 0.95$)

Лекарственное вещество	Рабочая область концентраций, М	Уравнение градуировочной зависимости $I^* = (A \pm \delta) + (B \pm \delta) \cdot (-lgc)$			c_{II} , М
		$A \pm \delta$	$-B \pm \delta$	r	
Иммуносенсор 1 (модификатор ВГО/НЧАu)					
Амитриптилин	$5 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-4}$	108 ± 10	2.55 ± 0.08	0.9812	5×10^{-9}
Дезипрамин		105 ± 10	2.86 ± 0.09	0.9828	6×10^{-9}
Иммуносенсор 2 (модификатор ГО-NH₂/НЧАu)					
Амитриптилин	$1 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-4}$	98 ± 5	1.15 ± 0.05	0.9815	8×10^{-9}
Дезипрамин		95 ± 5	1.12 ± 0.06	0.9835	9×10^{-9}
Иммуносенсор 3 (модификатор БУНТ 1/аминоиакаликс[4]арен(хит)/НЧАu)					
Амитриптилин	$1 \times 10^{-9} - 1 \times 10^{-5}$	135 ± 15	5.25 ± 0.09	0.9825	8×10^{-10}
Дезипрамин		132 ± 18	5.68 ± 0.09	0.9867	7×10^{-10}
Иммуносенсор 4 (модификатор БУНТ 4/аминоиакаликс[4]арен(водн)/НЧАu)					
Амитриптилин	$1 \times 10^{-9} - 1 \times 10^{-4}$	150 ± 20	7.18 ± 0.09	0.9878	4×10^{-10}
Дезипрамин		155 ± 18	7.35 ± 0.09	0.9846	6×10^{-10}

Примечание: $\Gamma = ((I_{At} - I_K)/I_{At}) \times 100$ %, где I_{At} – величина аналитического сигнала (ток) в присутствии A_t , I_K – величина аналитического сигнала (ток) при образовании иммунного комплекса.

Таблица 6. Результаты определения трициклических антидепрессантов иммуносенсорами (разведение A_t 1 : 200; $n = 5$; $P = 0.95$)

Лекарственное вещество	Введено, М	Найдено, М	s_r
Иммуносенсор 1 (модификатор ВГО/НЧАu)			
Амитриптилин	5×10^{-7}	$(5.25 \pm 0.09) \times 10^{-7}$	0.056
	5×10^{-6}	$(5.22 \pm 0.09) \times 10^{-6}$	0.037
Дезипрамин	1×10^{-7}	$(1.18 \pm 0.08) \times 10^{-7}$	0.068
	1×10^{-6}	$(1.23 \pm 0.05) \times 10^{-6}$	0.044
Иммуносенсор 2 (модификатор ГО-NH₂/НЧАu)			
Амитриптилин	5×10^{-7}	$(5.19 \pm 0.09) \times 10^{-7}$	0.050
	5×10^{-6}	$(5.21 \pm 0.09) \times 10^{-6}$	0.038
Дезипрамин	1×10^{-7}	$(1.24 \pm 0.08) \times 10^{-7}$	0.066
	1×10^{-6}	$(1.27 \pm 0.06) \times 10^{-6}$	0.048
Иммуносенсор 3 (модификатор БУНТ 1/аминоиакаликс[4]арен(хит)/НЧАu)			
Амитриптилин	5×10^{-7}	$(5.23 \pm 0.09) \times 10^{-7}$	0.055
	5×10^{-6}	$(5.18 \pm 0.09) \times 10^{-6}$	0.043
Дезипрамин	1×10^{-7}	$(1.17 \pm 0.09) \times 10^{-7}$	0.078
	1×10^{-6}	$(0.92 \pm 0.05) \times 10^{-6}$	0.057
Иммуносенсор 4 (модификатор БУНТ 4/аминоиакаликс[4]арен(водн)/НЧАu)			
Амитриптилин	5×10^{-7}	$(5.14 \pm 0.09) \times 10^{-7}$	0.052
	5×10^{-6}	$(5.16 \pm 0.09) \times 10^{-6}$	0.040
Дезипрамин	1×10^{-7}	$(1.15 \pm 0.08) \times 10^{-7}$	0.072
	1×10^{-6}	$(1.12 \pm 0.05) \times 10^{-6}$	0.047

Определение трициклических антидепрессантов в лекарственной форме. *Методика определения.* Таблетку лекарственного препарата измельчают до мелкодисперсного состояния, растворяют в 5 %-ном (по объему) водно-спиртовом растворе (2 мл), количественно переносят в мерную колбу емк. 50 мл и доводят до метки дистиллированной водой. Полученный раствор центрифугируют и отделяют надосадочную жидкость от осадка.

В электрохимическую ячейку объемом 2000 мкл помещают 20 мкл исследуемого раствора и ацетатный буферный раствор с рН 3.8, опускают иммуносенсор 4 – модифицированный электрод с иммобилизованными Аг (разведение 1 : 200). Затем добавляют аликвоту раствора Аг (диапазон концентраций 1×10^{-9} – 1×10^{-4} М). По полученным значениям тока вычисляют I^* (см табл. 5, градуировочные графики для иммуносенсоров 3 и 4).

Полученные результаты показали (табл. 7), что при определении трициклических антидепрессантов в фармацевтических препаратах амперометрическими иммуносенсорами относительное стандартное отклонение находится на уровне 0.04.

Определение трициклических антидепрессантов в моче. *Методика определения.* Мочу предварительно разбавляют в 10 раз ацетатным буферным раствором с рН 4.3. Далее иммуносенсор 4 опускают в ячейку, содержащую

подготовленную мочу с Аг (амитриптилин) и регистрируют аналитический сигнал в режиме ЦВА. В присутствии амитриптилина происходит уменьшение тока окисления от модификатора БУНТ 4/аминотиакаликс[4]арен(водн)/НЧАи. По полученным значениям I^* и градуировочной зависимости (см. табл. 5) рассчитывают концентрацию Аг в моче (табл. 8).

Для проверки правильности определения амитриптилина оценили корреляцию результатов, полученных с применением амперометрического иммуносенсора 4, и данных метода поляризационного флуоресцентного иммуноанализа с силикатными наночастицами, допированными $\text{Ru}(\text{dipy})_3^{2+}$ ($[\text{Ru}(\text{dipy})_3]\text{Cl}_2 @ \text{SiO}_2$) качестве флуоресцентной метки [47]. Полученные значения t - и F -критериев показали, что результаты равноточны, и вклад систематической погрешности незначим, так как $t_{\text{табл}} > t_{\text{расч}}$, $F_{\text{табл}} > F_{\text{расч}}$. Погрешность определения не превышает 0.085 (табл. 8).

Следует отметить, что перекрестное реагирование (CR) практически отсутствует в присутствии в исследуемом растворе других лекарственных препаратов, что показано на примере антибиотиков группы макролидов (азитромицин – CR 0.001 %), фторхинолонов (ципрофлоксацин – CR 0.05 %) и тетрациклинов (тетрациклин – CR 0.1 %), нестероидных противовоспалительных препаратов (диклофенак – CR 0.01 %).

Таблица 7. Результаты определения трициклических антидепрессантов в фармацевтических препаратах (содержание действующего вещества по данным производителя 25 мг; $n = 5$; $P = 0.95$)

Фармацевтический препарат	Тип иммуносенсора	Найдено, мг	s_r
Амитриптилин, ЗиО-Здоровье, Россия	Иммуносенсор 3	24.8 ± 0.8	0.036
Петилил (действующее вещество дезипрамин), AWD, Германия	Иммуносенсор 4	24.6 ± 0.9	0.040

Таблица 8. Результаты определения амитриптилина в моче ($n = 5$; $P = 0.95$; $t_{\text{табл}} = 2.78$, $F_{\text{табл}} = 6.39$)

Метод	Найдено, М	s_r	$t_{\text{расч}}$	$F_{\text{расч}}$
Амперометрический иммуносенсор 4	$(4.2 \pm 0.4) \times 10^{-8}$	0.085	1.24	2.08
Поляризационный флуоресцентный иммуноанализ	$(4.1 \pm 0.3) \times 10^{-8}$	0.083		

* * *

Изучение свойств модифицирующих материалов различными физическими и электрохимическими методами позволило предложить комбинированные составы на основе электрохимически осажденных наночастиц золота на углеродной подложке из функционализированного оксида графена, восстановленного оксида графена и бумаги из углеродных нанотрубок в сочетании с аминоакаликс[4]ареном в качестве модификаторов печатных графитовых электродов. Подобраны условия получения оптимальных сочетаний углеродной нанобумаги, аминоакаликс[4]арена и наночастиц золота, позволившие разработать высокочувствительные амперометрические иммуносенсоры с областью определяемых концентраций трициклических антидепрессантов (амитриптилин, дезипрамин) 1×10^{-9} – 1×10^{-4} М. Предложенные методики определения трициклических антидепрессантов опробованы при анализе реальных объектов (фармацевтические препараты, урина), относительное стандартное отклонение не превышает 0.085.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке проекта Казанского (Приволжского) федерального университета “Материалы для зеленой энергетики и жизнедеятельности”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все исследования проводились в соответствии с принципами биомедицинской этики, изложенными в Хельсинкской декларации 1964 г. и последующих поправках к ней. Они также были одобрены Комитетом по этике Межрегионального клинико-диагностического центра (Казань, Россия), протокол № 134 от 15.08.2023. Каждый участник исследования дал добровольное письменное информированное согласие после получения разъяснений о потенциальных рисках и преимуществах, а также о характере предстоящего исследования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Balahura L.R., Stefan-Van Staden R.I., Van Staden J.F., Aboul-Enein H.Y. Advances in immunosensors for clinical applications // *J. Immunoassay Immunochem.* 2019. V. 40. № 1. P. 40. <https://doi.org/10.1080/15321819.2018.1543704>
2. Medyantseva E.P., Brusnitsyn D.V., Gazizullina E.R., Budnikov H.C. Analytical capabilities of some immunosensors for the determination of drugs / *Macro, Micro, and Nano-Biosensors: Potential Applications and Possible Limitations* / Eds. M. Rai, A. Reshetilov, Y. Plekhanova, A.P. Ingle. Springer, 2021. P. 177. https://doi.org/10.1007/978-3-030-55490-3_10
3. Wang A., Ma K., You X., Chen Y., Liu H., Qi Y. et al. A sensitive analysis of sulfadimethoxine using an AuNPs/Ag-GO-Nf-based electrochemical immunosensor // *J. Solid State Electrochem.* 2022. V. 26. P. 515. <https://doi.org/10.1007/s10008-021-05069-8>
4. Ibragimova R., Burilov V., Aimetdinov A., Mironova D., Evtugyn V., Osin Y. et al. Polycationic derivatives of p-tert-butylthiacalix[4]arene in 1,3-alternate stereoisomeric form: new DNA condensing agents // *Macrocyclics.* 2016. V. 9. № 4. P. 433. <https://doi.org/10.6060/mhc161180b>
5. Kanu A.B. Recent developments in sample preparation techniques combined with high-performance liquid chromatography: A critical review // *J. Chromatogr. A.* 2021. V. 1654. Article 462444. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462444>
6. Kasagic-Vujanovic I., Jancic-Stojanovic B. Quality by design oriented development of hydrophilic interaction liquid chromatography method for the analysis of amitriptyline and its impurities // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2019. V. 173. P. 86. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.05.026>
7. Sajid M., Alhooshani K. Dispersive liquid-liquid microextraction based binary extraction techniques prior to chromatographic analysis: A review // *Trends Anal. Chem.* 2018. V. 108. P. 167. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.08.016>
8. Safari M., Shahlaei M., Yamini Y., Shakorian M., Arkan E. Magnetic framework composite as sorbent for magnetic solid phase extraction coupled with high performance liquid chromatography for simultaneous extraction and determination of tricyclic antidepressants // *Anal. Chim. Acta.* 2018. V. 1034. P. 204. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.023>
9. Karami M., Yamini Y. On-disc electromembrane extraction-dispersive liquid-liquid microextraction: A fast and effective method for extraction and determination of ionic target analytes from complex biofluids by GC/MS // *Anal. Chim. Acta.* 2020. V. 1105. P. 95. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.01.024>
10. Křesinová Z., Linhartová L., Petrů K., Krejčová L., Šrédlová K., Lhotský O. et al. Method for analysis of psychopharmaceuticals in real industrial wastewater and groundwater with suspended organic particulate matter using solid phase extraction disks extraction and ultra-high performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2016. V. 1440. P. 15. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.02.035>
11. Rossmann J., Renner L.D., Oertel R., El-Armouche A. Post-column infusion of internal standard quantification for liquid chromatography-electrospray

- ionization-tandem mass spectrometry analysis – Pharmaceuticals in urine as example approach // *J. Chromatogr. A*. 2018. V. 1535. P. 80.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.01.001>
12. *Carasek E., Morés L., Merib J.* Basic principles, recent trends and future directions of microextraction techniques for the analysis of aqueous environmental samples // *Trends Anal. Chem.* 2018. V. 19. Article e00060.
<https://doi.org/10.1016/j.teac.2018.e00060>
 13. *Oliveira F.M., Scheel G.L., Augusti R., Tarley C.R.T., Nascentes C.C.* Supramolecular microextraction combined with paper spray ionization mass spectrometry for sensitive determination of tricyclic antidepressants in urine // *Anal. Chim. Acta.* 2020. V. 1106. P. 52.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.01.061>
 14. *Ocana-Gonzalez J.A., Fernandez-Torres R., Bello-Lopez M.A., Ramos-Payan M.* New developments in microextraction techniques in bioanalysis. A review // *Anal. Chim. Acta.* 2016. V. 905. P. 8.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.10.041>
 15. *Mansour F.R., Khairy M.A.* Pharmaceutical and biomedical applications of dispersive liquid–liquid microextraction // *J. Chromatogr. B*. 2017. V. 1061–1062. P. 382.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.07.055>
 16. *Yu R.B., Quirino J.P.* Open-tubular admicellar electrochromatography of charged analytes // *Talanta*. 2020. V. 208. Article 120401.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120401>
 17. *Wu H.-F., Kailasa S.K., Yan J.-Y., Chin C.-C., Ku H.-Y.* Comparison of single-drop microextraction with microvolume pipette extraction directly coupled with capillary electrophoresis for extraction and separation of tricyclic antidepressant drugs // *J. Ind. Eng. Chem.* 2014. V. 20. № 4. Article 2071.
<https://doi.org/10.1016/j.jiec.2013.09.034>
 18. *Kamari K., Taheri A.* Preparation and evaluation of magnetic core–shell mesoporous molecularly imprinted polymers for selective adsorption of amitriptyline in biological samples // *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* 2018. V. 86. P. 230.
<https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.02.031>
 19. *Rutkowska M., Płotka-Wasyłka J., Morrison C., Wieczorek P.P., Namiesnik J., Marc M.* Application of molecularly imprinted polymers in analytical chiral separations and analysis // *Trends Anal. Chem.* 2018. V. 102. P. 91.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.01.011>
 20. *Brusnitsyn D.V., Medyantseva E.P., Varlamova R.M.* Carbon nanomaterials as electrode surface modifiers in development of amperometric monoamino oxidase biosensors // *Inorg. Mater.* 2016. V. 52. № 14. P. 1413.
<https://doi.org/10.1134/S002016851614003X>
 21. *Медянцев Э.П., Брусницын Д.В., Газизуллина Э.Р., Варламова Р.М., Коновалова О.А., Будников Г.К.* Гибридные нанокompозиты как модификаторы электродов амперометрических иммуносенсоров при определении амитриптилина // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. № 4. С. 360.
<https://doi.org/10.31857/S0044450220040118> (*Medyantseva E.P., Brusnitsyn D.V., Gazizullina E.R., Varlamova R.M., Kononova O.A., Budnikov H.C.* Hybrid nanocomposites as electrode modifiers in amperometric immunosensors for the determination of amitriptyline // *J. Anal. Chem.* 2020. V. 75. № 4. P. 536.
<https://doi.org/10.1134/S1061934820040103>)
 22. *Медянцев Э.П., Газизуллина Э.Р., Брусницын Д.В., Добрынин А.Б., Брылев К.А., Мустафина А.Р., Елистратова Ю.Г.* Амперометрические иммуносенсоры на основе углеродных наноматериалов и кластеров рения для определения трициклических антидепрессантов в последовательной инъекционной системе // *Аналитика и контроль.* 2022. Т. 26. № 4. С. 255.
<https://doi.org/10.15826/analitika.2022.26.4.002>
 23. *Medyantseva E.P., Brusnitsyn D.V., Varlamova R.M.* Nanostructured composites based on graphene and cobalt nanoparticles in monoamine oxidase biosensors for determining antidepressants // *Inorg. Mater.* 2019. V. 55. № 14. P. 1390.
<https://doi.org/10.1134/S0020168519140103>
 24. *Медянцев Э.П., Брусницын Д.В., Газизуллина Э.Р., Бейлинсон Р.М., Еремин С.А., Кутырева М.П. и др.* Наноразмерные материалы в составе биосенсоров для определения амитриптилина // *Заводск. лаборатория. Диагностика материалов.* 2021. Т. 87. № 9. С. 20.
<https://doi.org/10.26896/1028-6861-2021-87-9-20-29>
 25. *Khataee S., Dehghan G., Shaghghi Z., Khataee A., Amini M.* A novel bifunctional electrochemical nanosensor for simultaneous detection of glucose and insulin based on NiO/Co₃O₄@CuAl LDH-MWCNT nanocomposite-modified carbon paste electrode // *Microchem. J.* 2024. V. 201. Article 110644.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110644>
 26. *Luo S., Wang G., Wang Y., Xu Y., Luo Y.* Carbon nanomaterials enabled fiber sensors: A structure-oriented strategy for highly sensitive and versatile in situ monitoring of composite curing process // *Composites. Part B*. 2019. V. 166. P. 645.
<https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2019.02.067>
 27. *Wang B., Duan Y., Xin Z., Yao X., Abliz D., Ziegmann G.* Fabrication of an enriched graphene surface protection of carbon fiber/epoxy composites for lightning strike via a percolating-assisted resin film infusion method // *Compos. Sci. Technol.* 2018. V. 158. P. 51.
<https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2018.01.047>
 28. *Boztepe S., Liu H., Heide D., Thostenson E.T.* Novel carbon nanotube interlaminar film sensors for carbon fiber composites under uniaxial fatigue loading // *Compos. Struct.* 2018. V. 189. P. 340.
<https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2018.01.033>

29. Harsini M., Widyaningrum B.A., Fitriany E., Paramita D.R.A., Farida A.N., Baktir A. et al. Electrochemical synthesis of polymelamine/gold nanoparticle modified carbon paste electrode as voltammetric sensor of dopamine // *Chin. J. Anal. Chem.* 2022. V. 50. № 4. Article 100052. <https://doi.org/10.1016/j.cjac.2022.100052>
30. Zhang Y., Du X., Mao J., He S., Cao Z. Facile preparation of gold nanoparticles anchored on layered yttrium hydroxide by electrochemical methods for enhanced sensing of hydroquinone and catechol // *Mater. Chem. Phys.* 2024. V. 311. Article 128526. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2023.128526>
31. Wang J., Luo Z., Lin X. An ultrafast electrochemical synthesis of Au@Ag core-shell nanoflowers as a SERS substrate for thiram detection in milk and juice // *Food Chem.* 2023. V. 402. P. 134433. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134433>
32. Song K.-H., Chen F.-L., Xu J.-T., Wang K.-Z., Feng X.-Z., Han G.-C., Kraatz H.-B. Composites of nano-flower copper nanoparticles and well dispersed multi-walled carbon nanotubes for the voltammetric detection of moxifloxacin in pork // *Microchem. J.* 2024. V. 201. Article 110631. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110631>
33. Порфирьева А.В., Шибеева К.С., Евтюгин В.Г., Якимова Л.С., Стойков И.И., Евтюгин Г.А. Электрохимический ДНК-сенсор на доxorубин на основе полиэлектролитного комплекса и аминированного тиакаликс[4]арена // *Журн. аналит. химии.* 2019. Т. 74. № 7. С. 542. (Porfir'eva A.V., Shibaeva K.S., Evtugin V.G., Yakimova L.S., Stoikov I.I., Evtugin G.A. An electrochemical DNA sensor for doxorubicin based on a polyelectrolyte complex and aminated thiacalix[4]arene // *J. Anal. Chem.* 2019. V. 74. P. 707. <https://doi.org/10.1134/S1061934819070086>)
34. Stoikov D., Ivanov A., Shafiqullina I., Gavrikova M., Padnya P., Shiabiev I. et al. Flow-through amperometric biosensor system based on functionalized aryl derivative of phenothiazine and PAMAM-calix-dendrimers for the determination of uric acid // *Biosensors.* 2024. V. 14. № 3. P. 120. <https://doi.org/10.3390/bios14030120>
35. Zhang C., Zhang S., Jia Y., Li Y., Wang P., Liu Q. et al. Sandwich-type electrochemical immunosensor for sensitive detection of CEA based on the enhanced effects of Ag NPs@CS spaced Hemin/rGO // *Biosens. Bioelectron.* 2019. V. 126. P. 785. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.11.039>
36. Zhang Z., Yang M., Wu X., Dong S., Zhu N., Gyimah E. et al. A competitive immunosensor for ultrasensitive detection of sulphonamides from environmental waters using silver nanoparticles decorated single-walled carbon nanohorns as labels // *Chemosphere.* 2019. V. 225. P. 282. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.033>
37. Datta S., Neerukatti R.K., Chattopadhyay A. Bucky-paper embedded self-sensing composite for real-time fatigue damage diagnosis and prognosis // *Carbon.* 2018. V. 139. P. 353. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2018.06.059>
38. Kumar V., Sharma S., Pathak A., Singh B.P., Dhakate S.R., Yokozeki T., Okada T., Ogasawara T. Interleaved MWCNT buckypaper between CFRP laminates to improve through-thickness electrical conductivity and reducing lightning strike damage // *Compos. Struct.* 2019. V. 210. P. 581. <https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2018.11.088>
39. Cheng X., Yokozeki T., Wang H., Wu L., Sun Q.-F. Simultaneous enhancement of electrical conductivity and mechanical properties in buckypaper-reinforced polydivinylbenzene(doped polyaniline) composites // *Compos. Sci. Technol.* 2018. V. 161. P. 50. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2018.03.042>
40. Alanazi A.H., Jurewicz I., Alyahyawi A., Alsubaie A., Hinder S., Bañuls-Ciscar J. et al. Novel dosimetric study of the sp² to sp³ hybridisation ratio in free-standing carbon nanotubes buckypaper // *Radiat. Phys. Chem.* 2019. V. 154. P. 38. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2018.02.006>
41. Ibragimova R.R., Burilov V.A., Aimetdinov A.R., Mironova D.A., Evtugyn V.G., Osin Y.N., Solovieva S.E. and Antipin I.S. Macroheterocycles. 2016. V. 9. N 4. P. 433. <https://macroheterocycles.isuct.ru/en/mhc161180b>
42. Zhou J., Zhang C., Chen Y., Wang Z., Lan L., Wang Y. et al. A simple immunosensor for alpha-fetoprotein determination based on gold nanoparticles-dextran-reduced graphene oxide // *J. Electroanal. Chem.* 2019. V. 833. P. 126. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2018.11.036>
43. Liu P., Li C., Zhang R., Tang Q., Wei J., Lu Y., Shen P. An ultrasensitive electrochemical immunosensor for procalcitonin detection based on the gold nanoparticles-enhanced tyramide signal amplification strategy // *Biosens. Bioelectron.* 2019. V. 126. P. 543. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.10.048>
44. Fan Y., Shi S., Ma J., Guo Y. A paper-based electrochemical immunosensor with reduced graphene oxide/thionine/gold nanoparticles nanocomposites modification for the detection of cancer antigen 125 // *Biosens. Bioelectron.* 2019. V. 135. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.03.063>
45. Wang Z., Yang S., Wang Y., Feng W., Li B., Jiao J. et al. A novel oriented immunosensor based on AuNPs-thionine-CMWCNTs and staphylococcal protein A for interleukin-6 analysis in complicated biological samples // *Anal. Chim. Acta.* 2020. V. 1140. P. 145. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.10.025>
46. Cheng Y., Gao J., Shi Q., Li Z., Huang W. In situ electrochemical reduced Au loaded black TiO₂ nanotubes for visible light photocatalysis // *J. Alloys Compd.* 2022. V. 901. Article 163562. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2021.163562>

47. Медянцева, Э.П., Газизуллина Э.Р., Брусницын Д.В., Федоренко С.В., Мустафина А.Р., Еремин С.А. Определение амитриптилина методом поляризации флуоресцентного иммуноанализа // Журн. аналит. химии. 2022. Т. 77. № 9. С. 828. <https://doi.org/10.31857/S0044450222070088>

(Medyantseva E.P., Gazizullina E.R., Brusnitsyn D.V., Fedorenko S.V., Mustafina A.R., Eremin S.A. Determination of amitriptyline by fluorescence polarization immunoassay // J. Anal. Chem. 2022. V. 77. № 9. P. 1147. <https://doi.org/10.1134/s1061934822070085>)

GOLD NANOPARTICLES ELECTROCHEMICALLY DEPOSITED ON CARBON NANOMATERIALS AND THIALICALIXARENES IN IMMUNOSENSORS FOR DETERMINING TRICYCLIC ANTIDEPRESSANTS

D. V. Brusnitsyn^{a,*}, A. N. Ramazanova^a, E. P. Medyantseva^a, E. R. Ramazanova^b, A. V. Prytkova^a, E. R. Karimova^c, M. A. Ziganshin^a, V. A. Burilov^a, E. G. Makarov^a, T. L. Khamidullin^a

^a*Kazan (Volga region) Federal University, Alexander Butlerov Institute of Chemistry, Kazan, Russia*

^b*Kazan National Research Technological University, Institute of Petroleum, Chemistry and Nanotechnology, Kazan, Russia*

^c*Interregional clinical diagnostic center, Kazan, Russia*

*E-mail: brussman@mail.ru

Composite materials based on electrochemically deposited gold nanoparticles obtained by cyclic voltammetry and chronoamperometry on a carbon substrate of functionalized graphene oxide, reduced graphene oxide and carbon nanotube paper have been proposed. Composite materials were screened by atomic force microscopy, electrochemical impedance spectroscopy and voltammetry, which allowed us to select the best ones as modifiers of planar electrodes, on the basis of which highly sensitive immunosensors were developed. For the best amperometric immunosensors based on a combination of carbon paper, amino(thia)calix[4]arene, and gold nanoparticles for the determination of amitriptyline and desipramine, the working concentration range was 1×10^{-9} – 1×10^{-4} M, and the lower limit of detectable concentrations was $(4\text{--}6) \times 10^{-10}$ M. Amitriptyline and desipramine were determined by amperometric immunosensors in pharmaceutical preparations with relative standard deviation not exceeding 0.040. Comparison of the results of determination of tricyclic antidepressants by immunosensors and fluorescence polarization immunoassay in human urine with relative standard deviation not exceeding 0.085 indicates the correctness and convergence of the obtained results.

Keywords: gold nanoparticles, graphene oxide, reduced graphene oxide, carbon paper, amino(thia)calix[4]arenes, immunosensor, tricyclic antidepressants.