

УДК 544.653.2:577.323.7

ВОЗМОЖНОСТИ ИСКУССТВЕННЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ПОВЫШЕНИИ СЕЛЕКТИВНОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУБСТРАТОВ ОКСИДОРЕДУКТАЗ

Н.В. Борзенкова, И.А. Веселова, Т.Н. Шеховцова

(кафедра аналитической химии; e-mail: nvborzenkova@gmail.com)

В обзоре рассмотрены перспективы использования молекулярного распознавания искусственными рецепторами (макроциклическими соединениями и полимерами с молекулярными отпечатками) при создании сенсоров для определения биологически активных соединений – субстратов оксидоредуктаз в объектах со сложными матрицами. Впервые систематизированы сведения о получении, свойствах и применении в анализе комплексов указанных искусственных рецепторов с аналитами – органическими соединениями различных классов. Особое внимание уделено обсуждению подходов, обеспечивающих специфичность действия рецепторов за счет молекулярного распознавания.

Ключевые слова: субстраты оксидоредуктаз, полимеры с молекулярными отпечатками, макроциклические соединения, молекулярное распознавание.

Важной проблемой аналитической химии является повышение селективности определения близких по свойствам органических соединений. Один из подходов к ее решению заключается в использовании ферментов. Так, ферменты класса оксидоредуктаз (пероксидаза хрена, лакказы, тирозиназа) нашли широкое применение в ферментных электродах, сенсорах, иммуноанализе, кинетическом методе. Субстраты указанных оксидоредуктаз охватывают широкий круг веществ от экологически опасных фенольных и серосодержащих соединений нефти до лекарственных веществ (катехоламинов, фенотиазинов, флавоноидов). Эти субстраты часто необходимо определять в многокомпонентных малорастворимых в воде матрицах: нефти и ее фракциях, почвах, органических экстрактах из растительных объектов и биологических жидкостей и тканей. Сложный состав таких матриц затрудняет, а в ряде случаев делает невозможным селективное определение их компонентов. Применение ферментов в подобных системах сильно ограничено вследствие низкой стабильности и активности в них биокатализаторов. Следует отметить, что содержания целевых соединений в указанных объектах малы (вплоть до следовых), поэтому инактивация ферментов может приводить к недостаточной чувствительности анализа. Кроме того, широкая субстратная специфичность оксидоредуктаз препятствует индивидуальному определению близких по структуре соединений при совместном присутствии.

Для повышения селективности ферментативного определения компонентов в сложных матрицах не-

обходимо использовать дополнительные приемы. Для этой цели перспективно применение соединений и материалов, способных к молекулярному распознаванию – искусственных рецепторов, таких, как макроциклические соединения и полимеры с молекулярными отпечатками. Макроциклические соединения (краун-эфиры, циклодекстрины, каликсарены и др.) способны образовывать нековалентные комплексы типа «гость-хозяин» с разными соединениями. Варьирование функциональных групп в макроциклической структуре позволяет достичь необходимой селективности взаимодействий полученных производных [1]. С недавних пор макроциклические соединения широко используют в хроматографии, электрофорезе, ионселективных мембранах и электродах [2]. Полимеры с молекулярными отпечатками, в свою очередь, могут селективно распознавать соединение (или класс структурно-родственных соединений), для связывания которого они синтезированы. Важным преимуществом полимеров с молекулярными отпечатками является возможность их использования в органических средах, механическая прочность, простота регенерации, возможность придания требуемой формы. Возрастающий интерес к полимерам с молекулярными отпечатками связан с их применением в твердофазной экстракции, хроматографии, иммуноанализе.

Применение искусственных рецепторов для выделения субстратов оксидоредуктаз из матрицы может повысить селективность определения и стабильность ферментов. Однако в литературе практически

отсутствуют сведения о совместном использовании в аналитических целях искусственных рецепторов и ферментов. Но подходы, используемые в аналитической практике, а также в других областях химии, по нашему мнению, могут быть применены при разработке ферментных сенсоров (биосенсоров).

Цель обзора – систематизация сведений о получении, свойствах и применении, в том числе в аналитических целях, комплексов указанных искусственных рецепторов и субстратов оксидоредуктаз, а также оценка возможностей и перспектив их использования для повышения селективности ферментных сенсоров. Необходимо отметить, что макроциклические соединения, в частности циклодекстрины, широко и успешно применяют в качестве хиральных селекторов для разделения энантиомеров флавоноидов, катехоламинов и S-оксидов методами капиллярного электрофореза и электрокинетической хроматографии. Однако этот аспект их применения в настоящем обзоре не освещен, поскольку он может стать предметом рассмотрения в отдельной публикации, а также представляется малоинформативным для обсуждения проблемы создания биосенсоров.

Искусственные рецепторы

В этом разделе мы рассмотрим наиболее перспективные из используемых в анализе классов искусственных рецепторов.

Макроциклические соединения

Макроциклические соединения широко применяются в качестве распознающих элементов электрохи-

мических сенсоров. Синтезированы различные классы этих соединений, однако для распознавания органических молекул в аналитической практике наиболее широко применяют два из них: циклодекстрины и каликсарены.

Циклодекстрины (ЦД) – класс циклических олигосахаридов, получаемых ферментативным гидролизом крахмала. Наиболее часто используют ЦД, содержащие шесть, семь и восемь остатков глюкозы (соответственно α -, β - и γ -ЦД) (рис. 1). Молекулы ЦД имеют форму усеченного конуса, большее основание которого образовано вторичными 2- и 3-ОН-группами, а меньшее – первичными 6-ОН-группами. Внутренняя поверхность конуса образована атомами водорода и гликозидными кислородными мостиками. Такое расположение функциональных групп в молекулах ЦД приводит к образованию внутренней гидрофобной полости при наличии внешних гидрофильных участков (рис. 1). Размер полости ЦД определяется числом остатков глюкозы, входящих в его состав, и варьирует от 0,5 до 0,85 нм [2, 3].

Каликс[*n*]арены (где [*n*] показывает число фенольных звеньев в молекуле [4]) – синтетические циклические олигомеры, которые получают путем фенолформальдегидной конденсации [1]. В структуре молекул каликсаренов, имеющих форму чаши, выделяют верхний, нижний и центральный кольцевой обод. Центральный обод образован ароматическими ядрами фенола и обладает гидрофобными свойствами. Типичный размер гидроксильной цепи каликсарена (нижний обод) находится в пределах 0,2–1,17 нм [5]. Благодаря наличию гидрофобной полости (центральной

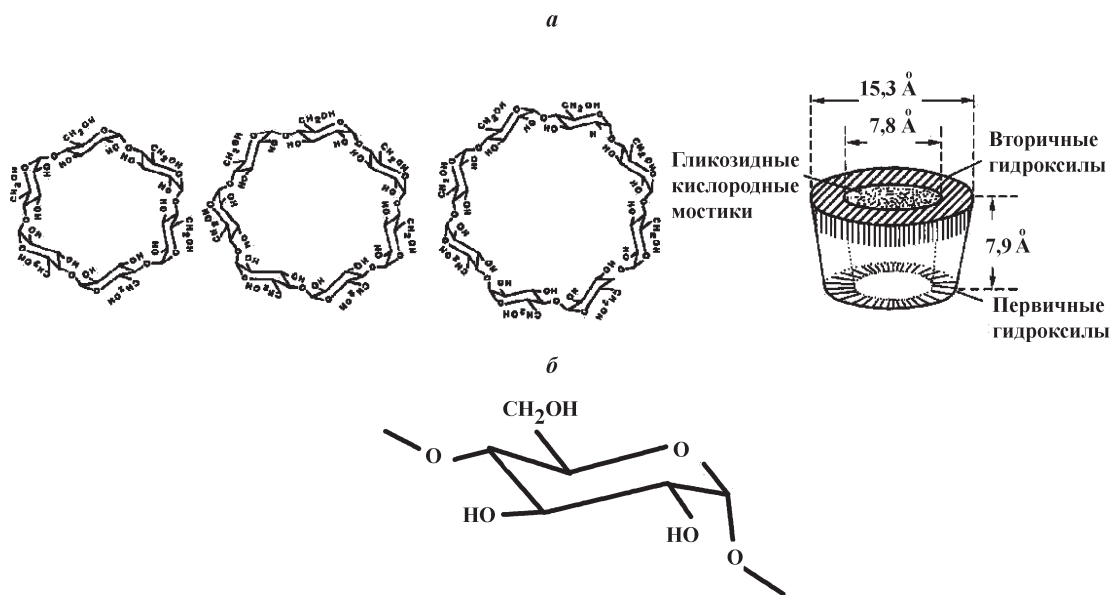


Рис. 1. Структуры: плоские α -, β - и γ -циклодекстринов, объемная – на примере β -циклодекстрина [2] (а) и мономерный фрагмент с кислородными мостиками (б)

ного кольцевого обода), образованной фенольными фрагментами, каликсарены способны образовывать инклюзионные комплексы с разными соединениями, от ионов металлов до биомакромолекул. Простота модификации боковых групп позволяет «нацеливать» каликсарены на заданные молекулы [4].

Полимеры с молекулярными отпечатками

Полимеры с молекулярными отпечатками (МИП, от англ. molecularly imprinted polymer – MIP) получают в результате сополимеризации функционального и сшивающего мономеров в присутствии соединения (темплата), отпечатки которого хотят получить [6]. Последующее удаление темплата экстракцией органическим растворителем или химическим разрушением связей приводит к возникновению в полимере молекулярных отпечатков – полостей, комплементарных темплату по размеру, форме и расположению функциональных групп. Такие молекулярные отпечатки способны к повторному высокоспецифичному взаимодействию с темплатом или его структурным аналогом [6]. Важную роль в синтезе МИП играет растворитель, или так называемый пороген. Он определяет силу нековалентных взаимодействий с темплатом, а также влияет на морфологию полимера [7].

Важнейшие характеристики МИП: сорбционная емкость (количество сорбируемого соединения на 1 г полимера при достижении равновесия), импринтинг-фактор и селективность. Импринтинг-фактор (IF) рассчитывают как отношение коэффициента распределения сорбируемого соединения при использовании МИП к коэффициенту распределения этого соединения в случае полимера сравнения (НИП, от англ. non-imprinted polymer – NIP): $IF = D_{\text{МИП}}/D_{\text{НИП}}$.

НИП получают так же, как МИП, но без использования темплата. Эффект импринтинга заключается в приобретении полимером способности к специфической сорбции соединения-темплата за счет молекулярного распознавания, в отличие от НИП, для которого возможна только неспецифическая сорбция, которая тем не менее может быть значительной.

Роль искусственных рецепторов в селективном распознавании, извлечении и последующем определении субстратов оксидоредуктаз различных классов

В этом разделе мы остановимся на применении искусственных рецепторов для распознавания субстратов оксидоредуктаз. Рассмотрим получение комплексов и основанные на этом методики извлечения и определения соединений различных классов.

Кислородсодержащие соединения

Кислородсодержащие соединения относятся к наиболее изученным, «классическим» субстратам оксидоредуктаз.

Фенолы. Фенольные соединения, несмотря на их токсичность, широко используют в химической и фармацевтической промышленности. Попадая в почву и воду, эти соединения представляют угрозу для окружающей среды и здоровья человека [8]. Так, для обитателей водоемов опасна концентрация фенола >1 мг/л, поэтому содержание фенольных соединений в очищенных сточных водах в большинстве случаев регулируют на уровне 0,5 мг/л. Предельная концентрация фенольных соединений в питьевой воде, установленная Агентством по охране окружающей среды США, составляет 1 мкг/л [9]. Постоянный контроль содержания этих загрязняющих веществ в окружающей среде представляет собой актуальную задачу.

Для решения такой задачи перспективны высокочувствительные, простые в использовании и недорогие сенсорные системы. Вследствие того, что фенолы относятся к субстратам ферментов, например тирозиназы и растительных пероксидаз, для их определения разработаны высокочувствительные биосенсоры. Однако биосенсоры, основанные на ферментах, катализирующих окисление широкого круга фенольных соединений, недостаточно селективны, необходимо повышение селективности сенсоров. Для этой цели предложено использовать макроциклические соединения.

Изучение процессов образования комплексов между фенольными и макроциклическими соединениями – необходимый этап разработки сенсоров на основе макроциклических лигандов. Авторы работы [10] установили, что для определения констант образования инклюзионных комплексов ЦД более, чем методы ЯМР и спектроскопии в УФ-области, пригоден метод спектрального сдвига. Для выявления взаимосвязи между структурой и свойством было изучено образование комплексов β-ЦД с 16 *n*-замещенными фенолами. При этом среди разных *n*-замещенных фенолов резко выделялись алкоксипроизводные, чьи комплексы с β-ЦД характеризовались низкими константами устойчивости. Такая особенность алкоксипроизводных может быть связана с влиянием диполя, а также с повышенной геометрической лабильностью заместителей. Основной вклад в образование комплексов β-ЦД со всеми изученными производными вносили ван-дер-ваальсовы взаимодействия. Взаимодействия фенола, анилина и

их нитропроизводных (в протонированной и диссоциированной формах) с β -ЦД изучены в работе [11]. Включение заряженных молекул в гидрофобную полость ЦД, как правило, менее благоприятно, чем незаряженных. Исследователи обнаружили исключение – *n*-нитрофенол, ионная форма которого образовывала более стабильный инклюзионный комплекс, чем его недиссоциированная форма. При объяснении этого факта авторы исходили из предположения о доминирующей роли в образовании комплекса дисперсионных сил Лондона. Резонансная делокализация заряда в *n*-нитрофенолят-анионе увеличивает электронную плотность и поляризуемость, способствуя повышению устойчивости комплекса. Аналогичный эффект отсутствует у *m*-изомеров и незамещенных фенолов, поскольку такая делокализация возможна только в случае *n*- и *o*-изомеров. Однако *o*-положение менее благоприятно из-за стерических препятствий. В работе [12] сопоставлены константы образования комплексов различных *n*-замещенных фенолов, а также 2-нафтола, L-борнеола и 1-адамантола с β - и γ -ЦД. Установлено, что значения констант образования инклюзионных комплексов выше в случае больших молекул «гостей», таких, как 1-адамантанол и L-борнеол. Влияние природы заместителя в *n*-положении фенола на устойчивость инклюзионного комплекса с β -ЦД можно объяснить с точки зрения молекулярной геометрии комплекса (рис. 2).

Молекула фенола может проникать в гидрофобную полость β -ЦД (рис. 2, б), при этом ОН-группа и заместитель в *n*-положении фенола находятся в гидрофильном окружении. В таком случае природа заместителя не влияет на стабильность комплекса. Это наблюдалось в случаях таких заместителей, как галогены, алкильные радикалы, нитро- и цианогруппы. Если полость ЦД меньше размеров молекулы «гостя» (рис. 2, а), основным участком связывания оказывается заместитель в *n*-положении. Такая молекулярная геометрия приводит к высоким значениям константы образования комплекса и характерна для фенолов с объемными заместителями (I-, изопропил-) в

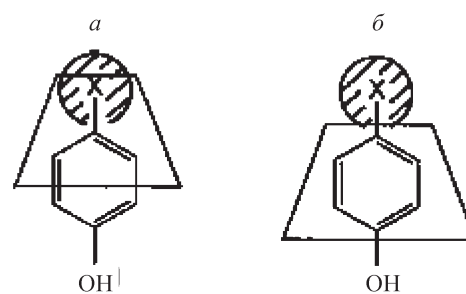


Рис. 2. Возможная молекулярная геометрия инклюзионного комплекса между ЦД и *n*-замещенным фенолом: а – включение заместителя в полость ЦД, б – включение ароматического ядра в полость ЦД [12]

n-положении. Стабильность комплексов β -ЦД со всеми исследованными фенолами хорошо коррелирует с поляризуемостью молекул «гостей». Комплексы β -ЦД с фенолят-ионами менее устойчивы, чем с нейтральными молекулами, за исключением *n*-нитрофенола, что согласуется с описанными в работе [11] данными. Авторы [12] установили, что для комплексов γ -ЦД с фенолами характерна стехиометрия 1:2, что согласно проведенным расчетам связано с дополнительным энергетическим выигрышем. Образование инклюзионных комплексов β -ЦД с линейными (бифенолом, изопропилфенолом) и нелинейными (бисфенолом А, фторированным бисфенолом А) фенолами изучено в работе [13]. Экспериментальное исследование, а также расчеты выявили большую стабильность комплексов с нелинейными молекулами, чем с линейными, что вызвано различием в геометрии образующихся комплексов. Авторами предложена оптимизированная геометрия соответствующих комплексов.

Для изучения термодинамики образования комплексов каликс[4]арена с фенолами авторы [14] варьировали природу заместителя в верхнем и нижнем ободах макроцикла и в *n*-положении фенола. К необычной стехиометрии «гость-хозяин» (1:2) независимо от природы фенольного соединения приводит использование 25,27-добензилоксикаликс[4]арена (рис. 3). При этом образование комплекса носит «самопереключающийся» характер: вторая

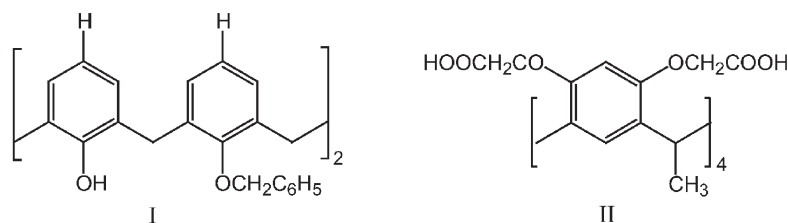


Рис. 3. Структура каликсаренов, образующих комплексы с фенолами: 25,27-добензилоксикаликс[4]арена (I) и октакарбоксилат С-метил-каликс[4]резорцинарена (II) [14, 15]

молекула фенола связывается двумя бензилокси-заместителями только после включения в полость каликсарена первой молекулы – «гостя». Наличие объемного *трет*-бутильного заместителя в верхнем ободе каликсарена восстанавливает традиционную стехиометрию инклюзионных комплексов 1:1. Комплексы 25,27-дибензилоксикаликс[4]арена, не содержащего *трет*-бутильного заместителя, характеризуются низкой устойчивостью. Это связано с большим (по модулю) изменением энтропии при образовании комплекса вследствие переориентации молекул растворителя вблизи каликсарена, что компенсирует выигрыш в энтальпии, в результате чего изменение энергии Гиббса незначительно. Определяющую роль в стабилизацию комплекса вносят π - π взаимодействия. В работе [15] те же исследователи показали, что в присутствии Fe(II) водорастворимый каликс[4]резорцинарен (рис. 3) образует с фенолом комплекс сэндвич-типа состава 1:2.

На основе макроциклических соединений, выполняющих функцию искусственных рецепторов, разработаны фенол-селективные электроды. Печатные электроды, модифицированные α -ЦД, использовали для определения фенолов в водной среде методами циклической, дифференциальной импульсной и квадратно-волновой вольтамперометрии [8]. Среди изученных методов наиболее чувствительное определение фенола (с пределом обнаружения 30 нМ) обеспечивало применение квадратно-волновой вольтамперометрии. Чувствительность определения изомерных крезолов с помощью предложенных электродов была выше, чем фенола (отклик электродов составил

135–275% от отклика на фенол), электроды были также пригодны для определения *n*-нитрофенола (отклик составил 34% от отклика на фенол). Влияние на отклик электродов других органических соединений возрастало в следующем ряду:

бензальдегид \leq бензойная кислота < гиппуровая кислота \sim бензиловый спирт \ll циклогексанол \leq аскорбиновая кислота.

В работе [16] методом циклической вольтамперометрии изучена способность серебряных электродов, модифицированных ЦД, распознавать изомеры нитрофенола. Электроды, покрытые монослоями дитиокарбаматов α - и β -ЦД, были селективны по отношению к *m*- и *n*-изомерам. Эти изомеры включались в полость макроциклического соединения таким образом, что нитрогруппа была доступна для взаимодействия с поверхностью электрода. Расположение функциональных групп *o*-изомера препятствовало образованию инклюзионного комплекса с α - и β -ЦД из-за стерических причин. Применение производного γ -ЦД обеспечивало отклик электрода на *o*-нитрофенол, хотя и при более отрицательном потенциале, что свидетельствовало о пригодности большой по размеру полости γ -ЦД для включения этого изомера. Аналогичную селективность по отношению к нейтральным изомерам нитрофенола проявляли электроды с жидкими мембранами на основе аминокаликс[4]резорцинаренов [17]. Величина отклика электродов убывала в ряду:

n-нитрофенол \geq *m*-нитрофенол > *o*-нитрофенол.

Полученные электроды были способны селективно распознавать *n*-нитрофенол в присутствии *o*-изомера ($\log k_{A,B}^{\text{пот}} > 0,7$). Авторы предложи-

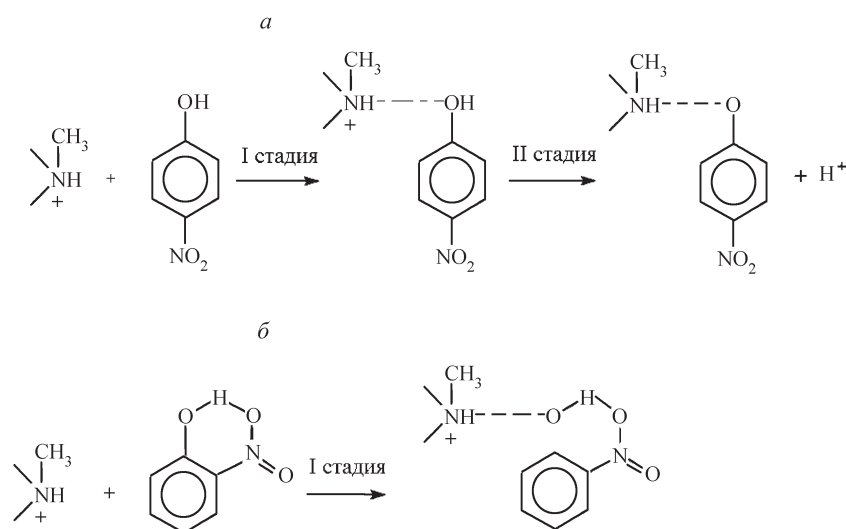


Рис. 4. Взаимодействие протонированного аминокаликс[4]арена с *n*-нитрофенолом (а) и *o*-нитрофенолом (б) [17]

ли двухстадийный механизм взаимодействия *n*- и *o*-нитрофенолов с протонированными молекулами «хозяина» (рис. 4). Согласно этому механизму при взаимодействии *n*-нитрофенола с молекулами «хозяина» на первой стадии образуется водородная связь между протонированной аминогруппой «хозяина» и свободной электронной парой «гостя». На второй стадии образуется супрамолекулярный комплекс и выделяется протон. В случае *o*-нитрофенола вторая стадия невозможна из-за наличия внутримолекулярной водородной связи между NH₂- и OH-группами.

В работе [18] предложено сочетание чувствительности, достигаемой при помощи фермента, с селективностью, обеспечиваемой макроциклическим соединением. Так, для повышения селективности определения фенолов с применением биосенсора на основе тирозиназы использовали покрытие электрода полупроницаемой мембраной из поливинилового спирта, содержащей β-ЦД. Использование немодифицированного биосенсора не позволяло избирательно определить фенол и катехол, при этом электрод обладал меньшей чувствительностью по отношению к *n*-крезолу. Покрытие биосенсора полупроницаемой мембраной приводило почти к 9-кратному уменьшению чувствительности определения фенола в водном растворе из-за дополнительных диффузионных ограничений. Резкое снижение чувствительности, по-видимому, помешало авторам изучить селективность полученного сенсора. Однако они показали, что наличие в мембране β-ЦД способствовало транспорту небольших гидрофобных молекул, таких, как фенол. Можно предположить, что при определении фенола в смеси соединений мембрана, содержащая β-ЦД, будет способствовать уменьшению мешающего влияния других молекул.

Искусственные рецепторы оказались эффективными для экстракции и концентрирования фенолов. Микрокапсулы на основе сополимера гидроксипропилметакрилата и этиленгликольдиметакрилата (ЭГДМА), модифицированные β-ЦД, использовали в качестве специфического сорбента для выделения фенольных соединений из водной среды и концентрирования перед определением методом спектрофотометрии [19]. Сорбционная емкость микрокапсул по отношению к фенольным соединениям убывала в ряду:

o-нитрофенол > фенол > *o*-хлорфенол > *n*-нитрофенол
> *n*-хлорфенол.

С помощью микрокапсул удалось достичь 200-кратного предконцентрирования и снизить предел обнаружения фенола, *o*-нитрофенола, *n*-нитрофенола, *o*-хлорфенола и *n*-хлорфенола до 31; 29; 27; 30 и 38 нг/г

соответственно. Сочетание предложенной методики предконцентрирования и определения методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием при хорошей воспроизводимости результатов анализа ($s_r < 0,07$) обеспечило высокую степень извлечения фенолов (> 95%) из сточных вод бумажной фабрики. Соплимер винилпиридина и ЭГДМА с молекулярными отпечатками 2,4-диметилфенола был изучен в качестве твердофазного сорбента в работе [20]. МИП отличался классовой селективностью в отношении фенольных соединений и кроме темплата был способен распознавать 2,4-дихлорфенол, 4-хлорфенол, 4-метилфенол и фенол. Пределы обнаружения указанных фенолов методом ВЭЖХ после твердофазной экстракции из водного раствора с помощью МИП находились в диапазоне 2,2–4,0 нг/мл. Применение МИП для экстракции фенолов из речной воды и предконцентрирования позволило снизить мешающее влияние гуминовых кислот, при этом степень извлечения фенолов была почти вдвое больше, чем при использовании НИП. Однако лишь в случае 2,4-дихлорфенола и 4-хлорфенола степень извлечения превысила 90%. Для повышения селективности МИП по отношению к 2-хлорфенолу полезной оказалась его предварительная дериватизация с помощью 4-аминоантипирина [21]. Дериватизация способствовала увеличению размеров молекулы фенола и числа участков, доступных для связывания с полимером. Введение стадии дериватизации при подготовке пробы и применение полимера с молекулярными отпечатками продукта дериватизации привело к снижению степени извлечения других фенолов (0–44,7%) и предела обнаружения 2-хлорфенола с 7,10 до 0,05 нг/л.

Для улучшения распознающей способности МИП предложен способ полуковалентного импринтинга. Он отличается от традиционного нековалентного импринтинга тем, что при получении полимера темплат химически (ковалентно) «пришит» к мономеру; однако после удаления темплата дальнейшее его распознавание полимером имеет нековалентную природу. Авторы [22] сравнили этот способ с традиционным нековалентным импринтингом, используя в качестве темплатов 4-хлорфенил(4-винил)фенилкарбонат и 4-хлорфенол соответственно. Расчет импринтинг-факторов выявил большую специфическую сорбцию полимером, полученным полуковалентным импринтингом, чем нековалентным. Сорбция нековалентно отпечатанного полимера, в отличие от полуковалентно отпечатанного аналога, зависела не только от молекулярной структуры фенолов, но и от их кислотных свойств. Применение полуковалентно отпечатанного

полимера в качестве неподвижной фазы в ВЭЖХ позволило снизить уширение пиков и размывание, характерное для нековалентно отпечатанного полимера. Однако провести полуковалентный импринтинг с использованием 4-хлорфенилметакрилата не удалось: полученный полимер, в отличие от нековалентно отпечатанного 4-хлорфенолом, не обеспечивал молекулярное распознавание [23]. Полимер с молекулярными отпечатками 2,4,6-трихлорфенола использовали для микротвердофазной экстракции фенольных соединений из проб воды [24]. Применение метода «введено-найденно» показало, что предложенный сорбент может быть использован для предконцентрирования фенолов. Полученные результаты определения фенола, 4-хлорфенола, 2,4-дихлорфенола, 2,4,6-хлорфенола и пентахлорфенола составили 88,9–102,5% в водопроводной воде, 80,0–94,0% в речной воде и 80,0–90,5% в сточных водах. В работе [9] синтезирован полимер на основе акриламида с молекулярными отпечатками 2,4-динитрофенола, способный сорбировать до 3,5 мг темплата на 1 г полимера. Изучение селективности полученного МИП выявило его способность к распознаванию темплата в присутствии структурно родственных соединений, таких, как 2,4-дихлорфенол и 3-хлорфенол и фенол.

Способность МИП к молекулярному распознаванию позволяет использовать их в качестве миметиков ферментов. Так, в работе [25] для создания сенсоров для определения фенольных соединений предложено использовать МИП, имитирующий активный центр тирозиназы и обладающий каталитической активностью. Принцип разработанного сенсора заключается в окислении пирокатехина с помощью МИП и последующем определении кислорода с помощью соответствующего электрода. Для обеспечения каталитической активности при синтезе полимера с молекулярными отпечатками пирокатехина использовали этиловый эфир урокановой кислоты (имитирующий остатки гистидина активного центра фермента) и ионы Cu(II) (аналогично двум ионам в активном центре тирозиназы). По сравнению с биосенсором на основе грибной тирозиназы разработанный сенсор характеризуется повышенной селективностью: пригоден для определения *o*-дифенолов, но не их структурных аналогов (фенола, 4-нитрофенола, резорцина, гидрохинона и др.). Кроме того, разработанный сенсор обладает лучшей стабильностью – сохраняет 87% первоначальной каталитической активности при хранении в течение 1 года. Результаты определения катехола в пробах воды (речной, водопроводной, городской сточной) согласовывались с результатами,

полученными традиционным методом – ВЭЖХ. Теми же авторами разработана колориметрическая тест-система на основе мембран МИП для экспресс-контроля содержания фенолов в воде [26]. Полимер на основе итаконовой кислоты, содержащий молекулярные отпечатки фенола, обладает групповой селективностью в отношении монофенолов, поэтому разработанная тест-система может быть использована только для установления суммарного содержания монофенолов. Применение МИП и визуализация с помощью 4-аминоантипирина обеспечили низкий предел обнаружения фенола (50 нМ).

Флавоноиды. Флавоноиды – полифенольные соединения, содержащиеся в растениях. Флавоноиды обладают выраженной антиоксидантной активностью, а также противовоспалительным, противовирусным и противораковым действием. Широкий спектр физиологического действия флавоноидов способствует повышению интереса к ним как к лекарственным соединениям. В связи с этим экспрессные и простые методики определения как суммарного, так и индивидуального содержания флавоноидов, весьма востребованы. Флавоноиды в своей структуре содержат гидроксильные группы, которые легко окисляются, в том числе в присутствии ферментов, например, растительных пероксидаз, что открывает широкие возможности для их определения с помощью биосенсоров (рис. 5).

Однако низкая селективность пероксидаз, сложный состав матриц анализируемых объектов и структурное сходство флавоноидов, обладающих разной физиологической активностью, требуют проведения селективной пробоподготовки [27]. Экстракция и выделение целевых флавоноидов из растительного сырья – сложный и малоэффективный процесс вследствие низкой селективности традиционных сорбционных материалов (например, силикагеля, полиамидов). Селективность извлечения можно повысить, применяя МИП, специфично взаимодействующие с целевым соединением. В работе [28] кверцетин-отпечатанный полимер на основе метакриловой кислоты был получен в матрице макропористых гранул хитозана. Сорбционная емкость полученного МИП составила 101,03 мкг кверцетина/г полимера. Использование МИП в качестве неподвижной фазы для хроматографии позволило разделить близкие по структуре аналоги – кверцетин и изорамнетин. Сравнение связывающей способности различных нарингин-отпечатанных мембран на основе полиакрилонитрила и его сополимеров [29] показало, что она убывает в ряду полимеров:

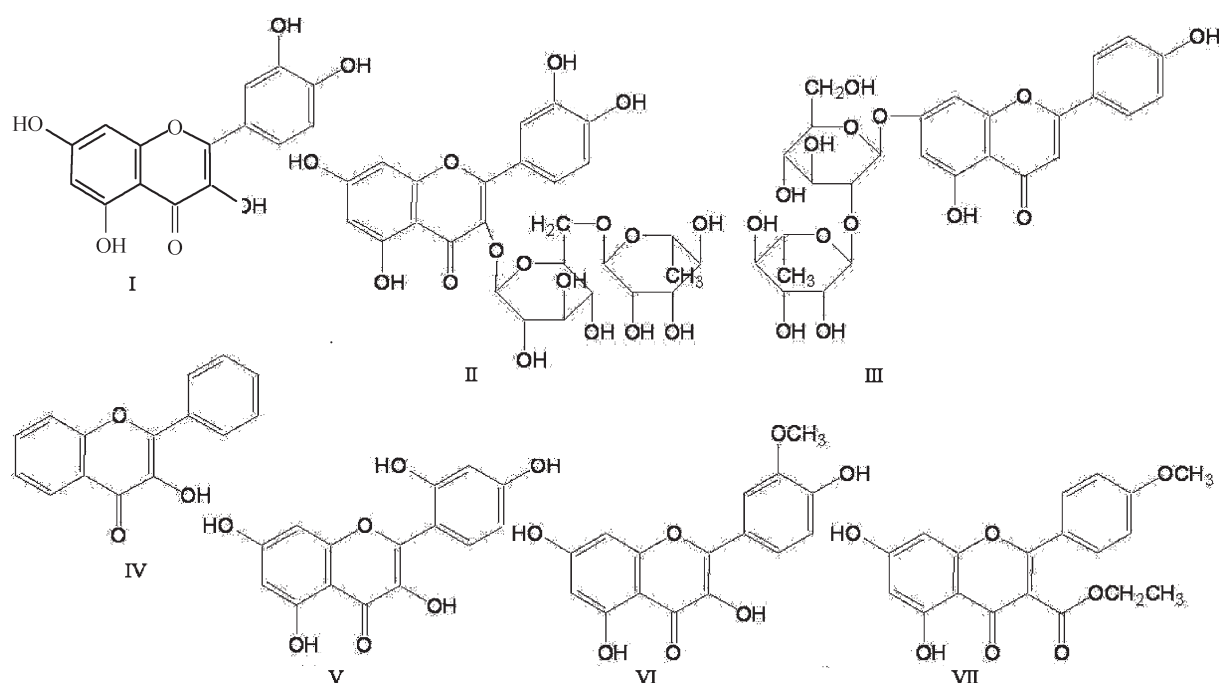


Рис. 5. Структурные формулы флавоноидов: кверцетина (I), рутина (II), нарингина (III), флавонола (IV), морины (V), изорамнетина (VI), С-фла (VII)

поли(акрилонитрил-со-амид) >>
>>поли(акрилонитрил-со-итаконвая кислота) >>
поли(акрилонитрил-со-акриловая кислота) >> поли-
акрилонитрил.

Такую зависимость можно объяснить с позиции кислотно-основных взаимодействий между фенольными гидроксогруппами нарингина, проявляющими слабые кислотные свойства, и амидными группами полимера. Как известно, растворимость нарингина в щелочной среде выше, чем в нейтральной или кислой. Кроме того, за счет образования водородных связей амидные группы поли(акрилонитрил-со-амида) более прочно взаимодействуют с темплатом, чем карбоксильные группы поли(акрилонитрил-со-итаконвой кислоты) или поли(акрилонитрил-со-акриловой кислоты). МИП на основе акриламида и ЭГДМА использованы для твердофазной экстракции кверцетина из травы *sacumen platycladi*, применяемой в китайской народной медицине [27]. МИП селективно извлекал кверцетин, устраняя мешающее влияние присутствующего в образце рутина и других компонентов матрицы.

На основе МИП разработаны полупроницаемые мембраны для разделения смесей, содержащих флавоноиды. Так, в работе [30] мембрану из молекулярно отпечатанного хитозана использовали для выделения примеси нарингина из подсластителя – неогесперидина. Проницаемость мембраны для темплата нарингина была в 4 раза выше, чем для неогесперидина, и

более чем в 10 раз выше, чем у мембраны сравнения. Таким образом, сформированные путем импринтинга каналы могут распознавать молекулы темплата и играть для них роль специфических «ворот».

МИП опробованы в качестве сорбционных материалов для твердофазной экстракции флавоноидов из напитков. В работе [31] для этой цели был синтезирован кверцетин-отпечатанный сополимер 4-винилпиридина и ЭГДМА. Сравнение его с НИП, а также с полимером, отпечатанным 2-карбоэтокси-5,7-дигидрокси-4-метоксиизофлавоном (С-фла), подтвердило наличие в полученном МИП селективных кверцетин-распознающих молекулярных отпечатков. Но применение МИП для твердофазной экстракции кверцетина в присутствии С-фла из модельного водно-спиртового раствора не дало желаемых результатов в связи с понижением селективности МИП из-за повышения роли неспецифических гидрофобных взаимодействий в полярной среде. Кверцетин-распознающий МИП той же химической природы был изучен в работе [32]. Сорбционная емкость МИП составила 0,4 г кверцетина/г полимера. Изучение селективности неподвижной фазы на основе полученного полимера выявило уменьшение ее удерживающей способности по отношению к структурно-родственным флавоноидам в их ряду:

кверцетин ~ морин > (+)-катехин >> С-фла ~ рутин.
Таким образом, МИП позволяет улучшить разделение

флавоноидов. Однако отсутствие полного разделения кверцетина и морина и наложение их спектров не позволяют определить указанные флавоноиды методом хроматографии с УФ-детектором. Использование МИП для предварительной твердофазной экстракции флавоноидов с их последующим определением методом ВЭЖХ позволило значительно снизить мешающее влияние матрицы и определить кверцетин в красном вине. Разделения кверцетина и содержащихся в вине фенольных соединений при использовании вместо МИП коммерческого C18-картриджа достичь не удалось. Аналогичные по природе полимеры, отпечатанные кверцетином и рутином, исследовали в работе [33]. Полученные МИП независимо от природы темплата лучше извлекали более полярные рутин и нарингин, чем кверцетин. Применение рутин-отпечатанных полимеров для предварительной твердофазной экстракции позволило разработать методики хроматографического определения рутина, нарингина и кверцетина, отличающиеся хорошими аналитическими характеристиками (пределы обнаружения рутина, нарингина и кверцетина составили 1,8; 0,99 и 0,39 мкг/мл соответственно; концентрация всех трех флавоноидов находилась в диапазоне 2,5–25 мкг/мл). При анализе напитков (белого и красного вина, апельсинового сока и зеленого чая) МИП были более эффективны для твердофазной экстракции и предконцентрирования указанных флавоноидов, чем коммерческие C18-картриджи.

На основе МИП разработано проточное оптосенсорное устройство для флуоресцентного определения флавонола [34]. Сенсор обладал высокой селективностью: присутствие 9-кратного избытка близких по структуре морина и кверцетина не мешало определению флавонола (погрешность завышения сигнала не превышала 17%). Предел обнаружения флавонола составил $5 \cdot 10^{-7}$ М. Использование оптосенсора для определения флавонола в оливковом масле позволило достичь высокой степени извлечения целевого соединения (95%) без предварительной экстракции и разделения. Разработанное устройство может быть полезно для анализа гидрофобных объектов, таких, как пищевые продукты и косметика, без предварительной подготовки пробы.

Другим подходом к повышению селективности определения флавоноидов без предварительного разделения является использование электродов, модифицированных ЦД. Электрохимический сенсор на основе многостенных углеродных нанотрубок, модифицированных β -ЦД, разработан для определения рутина методом циклической вольтамперометрии [35].

Образование инклюзионного комплекса с β -ЦД увеличивает отклик сенсора на рутин, а также степень предконцентрирования флавоноида по сравнению с электродом, модифицированным только углеродными нанотрубками. Сенсор обеспечивает широкий диапазон определяемых содержаний рутина ($4,0 \cdot 10^{-7}$ – $1,0 \cdot 10^{-3}$ М) и низкий предел его обнаружения ($2 \cdot 10^{-7}$ М). Изучение селективности полученного сенсора выявило, что 250-кратные избытки цитрат- и карбонат-ионов, аскорбиновой кислоты, сахарозы, глюкозы, фруктозы, 100-кратный избыток допамина, а также 3-кратный избыток адреналина и гемоглобина не мешают определению $4 \cdot 10^{-6}$ М рутина. Применение сенсора для определения рутина в моче обеспечило высокую степень извлечения флавоноида (>91%). Сравнение электродов на основе многостенных углеродных нанотрубок, модифицированных β -ЦД и его аналогом – мономером сукциногликана, показало, что чувствительность второго при определении кверцетина в воде методом квадратно-волновой вольтамперометрии в 16 раз выше [36]. Преимуществом нециклического аналога перед макроциклическим лигандом может быть наличие двух сукцинильных групп и открытая структура, позволяющая молекулам кверцетина легко диффундировать к участкам связывания. Учитывая этот факт, авторы [37] использовали сукцинил- β -ЦД для модификации углеродных нанотрубок при создании кверцетин-селективного электрода. Сравнение с электродом, покрытым β -ЦД-модифицированными углеродными нанотрубками, выявило значительное повышение селективности определения кверцетина в смеси с рутином в водном растворе. Дополнительная стабилизация инклюзионного комплекса с сукцинил- β -ЦД может быть вызвана нековалентными взаимодействиями, а также стерическими причинами. Взаимодействие с более объемной (за счет двух дополнительных глюкопиранозных циклов) молекулой рутина менее выгодно для модифицированного β -ЦД, чем для его аналога. Однако анализ смеси двух флавоноидов показал, что присутствие рутина завышает сигнал кверцетина на 30%, что связано с накоплением рутина на модифицированном электроде.

Катехоламины. Катехоламины – группа биогенных аминов, выполняющих функцию нейромедиаторов в центральной нервной системе человека и млекопитающих (рис. 6.). Контроль содержания катехоламинов и их метаболитов в биологических жидкостях (моче, плазме крови, спинно-мозговой жидкости) дает важную информацию о физиологическом действии этих соединений, а также позволяет диагностировать разные заболевания (шизофрению,

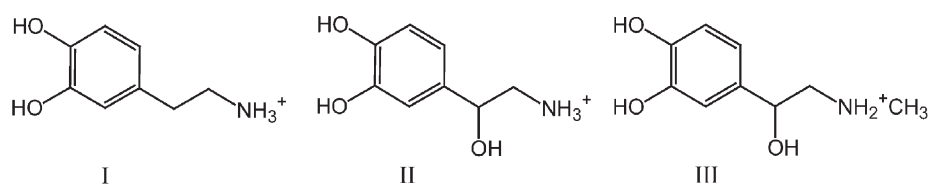


Рис. 6. Структурные формулы катехоламинов: допамина (I), норадреналина (II), адреналина (III)

болезнь Паркинсона, анорексию и др.). Нормальное содержание катехоламинов в биологических жидкостях составляет: для допамина – 10^{-8} – 10^{-6} М в крови [38], 10^{-7} – 10^{-6} М в спинно-мозговой жидкости [39], 100–400 мкг/день в моче [40]; для адреналина – 10^{-9} М в крови [41]. В связи с важностью выполняемых ими функций катехоламины (адреналин, допамин и др.) широко используют в медицине, что приводит к необходимости определения указанных соединений в фармацевтических препаратах (на уровне 10^{-6} М и выше). Определить катехоламины на требуемом уровне, в том числе в биообъектах, позволяют высокочувствительные электрохимические методы и флуоресцентная спектроскопия. Однако в связи со схожей химической структурой катехоламинов простые электрохимические методы не всегда обеспечивают необходимую селективность [42].

Основной способ селективного определения катехоламинов как в лекарственных препаратах, так и в биообъектах заключается в использовании электродов, модифицированных макроциклическими соединениями. В методе потенциометрии особенно успешным оказалось применение каликсаренов. Варьирование структуры каликсарена позволило достичь селективного распознавания того или иного катехоламина. Так, включение в ПВХ-мембрану триэфира гомооксокаликс[3]арена (табл. 1) обеспечило возможность селективного определения допамина (А) в присутствии схожих по структуре норадреналина и адреналина (В) ($k_{A,B}^{\text{пот}} < 0,01$) [43]. Более того, электрод обладает высокой селективностью по отношению к допамину и в присутствии ионов щелочных металлов: K^+ ($k_{\text{допамин},K}^{\text{пот}} = 6,5 \cdot 10^{-3}$) и Na^+ ($k_{\text{допамин},Na}^{\text{пот}} = 6,0 \cdot 10^{-4}$). Предложенный электрод может быть полезен для определения допамина в мозговой ткани, отличающейся высоким содержанием ионов K^+ и Na^+ . Применение в качестве ионофора липофильного гексаэфира каликс[6]арена (табл. 1) выявило тот же ряд селективности:

допамин > норадреналин ~ адреналин [44].

Такая селективность ионофора может быть объяснена соответствием его геометрии структуре молекулы катехоламина. Так, NH_3^+ -группа допамина может образовывать водородную связь с $C=O$ -группой ионофора, способствуя возникновению стабильного

инклюзионного комплекса. Напротив, наличие в молекулах адреналина и норадреналина заместителя в β -положении к аминогруппе служит стерическим препятствием при образовании комплекса. Более того, вторичная аминогруппа адреналина выступает дополнительным неблагоприятным фактором для образования комплекса.

В свою очередь, использование в качестве ионофора каликс[6]краун-5-эфира (табл. 1) позволяет селективно распознавать адреналин [45]. Так, отклик электрода снижается в ряду катехоламинов:

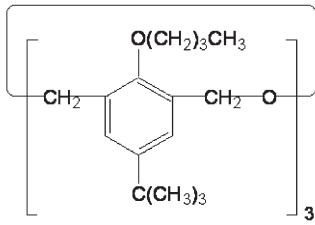
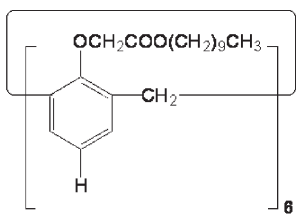
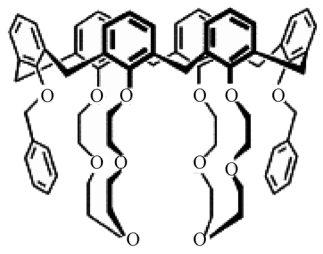
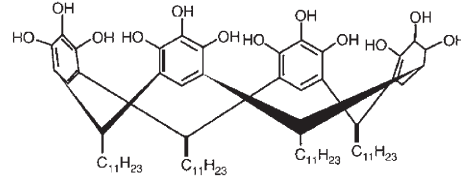
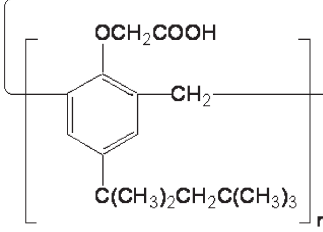
адреналин > допамин > норадреналин.

Электрод, содержащий указанный ионофор, селективен в отношении адреналина (А) в присутствии допамина (В) ($k_{A,B}^{\text{пот}} = 0,45$) и норадреналина (С) ($k_{A,C}^{\text{пот}} = 1,15$). Электрод обеспечивает определение адреналина в диапазоне $1,0 \cdot 10^{-4}$ – $1,0 \cdot 10^{-2}$ М.

Основным соединением, мешающим определению допамина в биологических жидкостях электрохимическими методами, является окисляющаяся при близком потенциале аскорбиновая кислота, содержание которой почти в 1000 раз превышает содержание катехоламина и составляет 10^{-3} М [46]. Для селективного определения этого и других катехоламинов в присутствии аскорбиновой кислоты и компонентов лекарственных препаратов разработаны электроды, модифицированные ЦД. Так, в работе [47] удалось определить норадреналин в присутствии аскорбиновой кислоты методом циклической вольтамперометрии с использованием электрода, модифицированного углеродными нанотрубками и β -ЦД. Диапазон определяемых концентраций и предел обнаружения норадреналина в водном растворе составили ($1 \cdot 10^{-6}$ – $3,0 \cdot 10^{-4}$) М и $5 \cdot 10^{-7}$ М соответственно. На основе сульфатированного β -ЦД разработан электрохимический сенсор для определения допамина [46]. Для получения сенсора поверхность платинового электрода модифицировали пленкой полипиррола, содержащей сульфатированный β -ЦД. Сенсор отличался высокой селективностью в отношении допамина: определению не мешало присутствие 16,7-кратного избытка аскорбиновой кислоты. Предел обнаружения допамина составил $3,2 \cdot 10^{-6}$ М. Изучение взаимодействия допамина и сульфатированного β -ЦД в растворе ме-

Т а б л и ц а 1

Каликсарены, используемые для распознавания катехоламинов

Структурная формула	Название	Литературная ссылка
	триэфир гомооксокаликс[3]арена	[43]
	липофильный гексаэфир каликс[6]арена	[44]
	каликс[6]краун-5-эфир	[45]
	каликс[4]резорциарен	[50]
	каликсаренкарбоксильные кислоты	[51]

тодом циклической вольтамперометрии подтвердило образование инклюзионного комплекса, предположительно, вследствие притяжения анионного ЦД и катионного допамина. Сенсор, обладающий более высокой чувствительностью, описан в работе [48]. Электрод, покрытый чередующимися слоями пленок

хитозана и углеродных нанотрубок с включенным β-ЦД, оказался пригодным для определения 0,1–25 мкМ допамина с пределом обнаружения 0,06 мкМ. Замена хитозана на полианилин способствовала улучшению метрологических характеристик сенсора: расширению диапазона определяемых содержа-

ний допамина до 0,1–1000 мкМ и снижению предела обнаружения до $1,2 \cdot 10^{-8}$ М [49]. Кроме того, сенсор обеспечивал селективное определение допамина в присутствии аскорбиновой кислоты. Применение сенсора для анализа инъекций, содержащих $1,0 \cdot 10^{-5}$ М гидрохлорида допамина, выявило хорошую воспроизводимость результатов измерений ($s_r \leq 0,023$). Модификация электрода 2,3,6-триэтил- β -ЦД позволила с помощью метода дифференциальной импульсной вольтамперометрии достичь предела обнаружения допамина (10^{-11} М), достаточного для клинического анализа [39].

Интересный вариант электрохимических биосенсоров для определения катехоламинов предложен в работах [40, 50]. Биосенсор представлял собой липидную пленку с включенным резорцин[4]ареном (табл. 1), стабилизированную на микропористом фильтре путем полимеризации. Благодаря наличию искусственного рецептора биосенсор отличался высокой селективностью по отношению к допамину в присутствии компонентов фармацевтических препаратов, пищевых продуктов и биологических жидкостей (аскорбиновая кислота, глюкоза, сорбит и др.). Так, относительное стандартное отклонение результатов определения допамина во всех случаях не превышало 0,05. Присутствие белка (на примере бычьего сывороточного альбумина) в концентрации < 322 мг/100 мл не мешало определению допамина, поэтому предложенный биосенсор может быть использован для анализа мочи. Разработанный сенсор был применен в качестве детектора при проточно-инжекционном анализе смеси адреналина, допамина и эфедрина [40]. Время появления сигнала от этих соединений возрастало с уменьшением их относительной гидрофильности в ряду: адреналин $<$ допамин $<$ эфедрин, что вызвано образованием инклюзионного комплекса с резорцин[4]ареном. Разработанная методика пригодна для определения 10–300 мкМ адреналина, 0,2– 2,0 мкМ допамина и 50–500 мкМ эфедрина с пределами обнаружения 5; 0,1 и 25 мкМ соответственно. Проверка результатов определения адреналина в моче способом «введено-найденно» показала, что компоненты матрицы не влияют на них.

Способ жидкостно-жидкостной экстракции катехоламинов с помощью каликсаренкарбокислых кислот (табл. 1) предложен в работе [51]. Большие по размеру молекулы производных каликс[6]арена и каликс[8]арена, в отличие от меньшего по размеру производного каликс[4]арена и мономерного аналога, оказались способными экстрагировать допамин и адреналин из водной фазы в хлороформ. Примечательно, что все изученные каликсарены были непригодны для экс-

тракции норадреналина. Авторы установили, что при использовании каликс[6]арена степень извлечения допамина более чем в 3 раза превышает степень извлечения адреналина. Это позволило исследователям заключить, что макроциклическая структура каликс[6]арена более пригодна для распознавания первичного амина – допамина, чем вторичного амина – адреналина. Напротив, каликс[8]арен не способен различать допамин и адреналин, поскольку размер полости его молекулы достаточен для образования комплекса с обоими катехоламинами.

Для проведения селективной твердофазной экстракции катехоламинов из сложных матриц синтезированы специфические МИП. В работе [7] получен допамин-отпечатанный полимер на основе метакриловой кислоты. Полимер характеризуется высокой распознающей способностью: сорбция допамина на МИП в 2,9 раза превышает сорбцию на НИП. Однако конкурентная экстракция смеси катехоламинов и родственного нейромедиатора 5-гидрокситриптамина выявила снижение селективности полученного МИП по отношению к катехоламинам в неожиданном ряду:

5-гидрокситриптамин $>$ адреналин $>$ допамин $>$
 $>$ норадреналин.

По мнению авторов, преимущественная сорбция 5-гидрокситриптамина по сравнению с катехоламинами связана с присутствием в его структуре дополнительного атома азота, обеспечивающего более эффективное взаимодействие с полимерной матрицей. Молекулярно отпечатанный гель на основе оксидов кремния и алюминия проявлял избирательность в отношении темплата-катехоламина, основанную на распознавании размеров молекулы [52]. Так, селективность МИП уменьшалась с ростом размера молекул в ряду темплатов: допамин $>$ норадреналин $>$ адреналин. Причиной такой зависимости может служить то, что полости допамин-отпечатанного полимера имеют наименьший размер и не могут связывать большие молекулы норадреналина и адреналина. В свою очередь, большие полости адреналин-отпечатанного полимера, несмотря на преимущественную сорбцию адреналина, связывают также значительные количества допамина и норадреналина. Термочувствительный N,N-метилен-*bis*-акриламид-сшитый полимер для селективного распознавания допамина был синтезирован в работе [53]. Селективность МИП убывала в ряду:

допамин $>$ серотонин \gg сальбутамол $>$ изопротеринол \sim адреналин \sim метилдопа $>$ гистамин $>$ аскорбиновая кислота.

Сорбционная емкость МИП по отношению к допамину зависит от температуры и достигает макси-

мума при температуре перехода полимера в набухшее состояние (35°C). Степень извлечения допамина и его аналогов при твердофазной экстракции из мочи также зависит от температуры. Степень извлечения допамина и серотонина максимальна при комнатной температуре и составляет 71,0 и 101,3% соответственно.

Применение МИП для модификации электродов оказалось успешным при прямом определении катехоламинов в биологических жидкостях и фармацевтических препаратах. Так, в работе [38] предложен сенсор на основе электрода «висящая ртутная капля», модифицированного МИП. Сополимер меламина и хлоранила с молекулярными отпечатками допамина высокоспецифичен к темплату, благодаря чему отклик полученного сенсора на возможные компоненты матрицы (аскорбиновую кислоту, мочевины, цистеин, кофеин) незначителен или отсутствует (в случаях адреналина, аминокислот, мочевой кислоты). Сенсор обеспечивает практически количественное извлечение допамина из сыворотки крови, спинно-мозговой жидкости и инъекций при хорошей воспроизводимости результатов ($s_r \leq 0,067$). Благодаря низкому пределу обнаружения допамина в сыворотке крови и спинно-мозговой жидкости (0,123 и 0,145 нг/мл соответственно) сенсор может быть применен для диагностики болезни Паркинсона. Для селективного определения допамина предложен микросенсор на основе молекулярно отпечатанного политетра(о-аминофенилпорфирина) [42]. Отклик микросенсора на допамин с хорошей воспроизводимостью ($s_r = 0,0622$) линеен в диапазоне концентраций допамина 10^{-6} – 10^{-4} М. МИП обеспечивает высокую селективность определения допамина в присутствии адреналина и норадреналина как в модельном растворе, так и в реальном биообъекте (мозговой ткани крыс). Пленка искусственного рецептора – адреналин-отпечатанного силикагеля использована для модификации электрода в работе [54]. Структура молекулы, плотность отрицательного заряда соединения и сила его π - π -взаимодействий с рецептором определяют селективность полученного электрода. Отклик электрода максимален в отношении темплата и близкого ему по структуре аналога – изопротеренола и составляет 79,9 и 75,3% относительно отклика немодифицированного электрода. Отрицательно заряженные соединения (L-допа, гидрокофеиновая и аскорбиновая кислоты) за счет взаимного отталкивания с силикатными группами МИП вызывают отклик электрода, не превышающий 47%. Сравнение электродов, модифицированных пленками МИП и НИП, выявило большую

чувствительность первого электрода, что вызвано ускорением транспорта адреналина распознающими участками МИП.

Селективный и чувствительный способ проточно-инъекционного определения адреналина, сочетающий извлечение и предварительное концентрирование катехоламина на МИП с хемилюминесцентным определением, предложен в работе [41]. Использование МИП на основе метакриловой кислоты устраняет мешающее действие большинства компонентов сыворотки крови, за исключением глюкозы и глутатиона, влияние которых можно устранить разбавлением. Кроме того, предварительное концентрирование с помощью МИП способствует снижению предела обнаружения адреналина в 10 раз. Метрологические характеристики разработанной методики (диапазон определяемых содержаний адреналина $5,0 \cdot 10^{-9}$ – $1,0 \cdot 10^{-7}$ М, предел обнаружения $3 \cdot 10^{-9}$ М) удовлетворяют требованиям анализа сыворотки крови. Методика успешно применена для определения адреналина в сыворотке крови, при этом степень извлечения катехоламина превысила 95%.

Серо- и азотсодержащие соединения: фенотиазины

Фенотиазины представляют собой класс искусственно синтезированных гетероциклических соединений, используемых в медицине в качестве транквилизаторов, антидепрессантов, нейролептиков, антиаллергенов и т.п. (рис. 7).

Фенотиазинам присуще длительное выведение из организма, а их передозировка приводит к отравлению и даже летальному исходу. В связи с этим необходим строгий контроль содержания фенотиазин в крови и моче больных, а при патологоанатомических исследованиях также и во внутренних органах (желудочно-кишечном тракте, легких, почках). Однако задача определения следовых количеств фенотиазин в сложных биологических матрицах чрезвычайно трудна. Предложено несколько путей ее решения с использованием МИП. Одним из них является селективная твердофазная экстракция и концен-

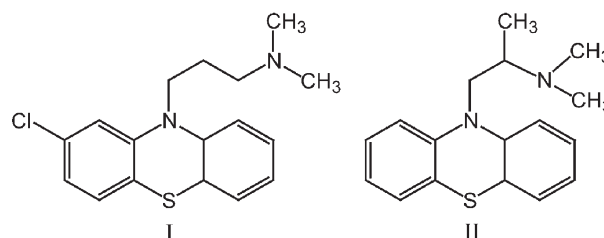


Рис. 7. Структурные формулы фенотиазин: хлорпромазина (I) и прометазина (II)

трирование фенотиазинов с помощью МИП. В работе [55] для извлечения хлорпромазина был синтезирован МИП на основе метакриловой кислоты. Полученный полимер проявлял распознающую способность в отношении темплата – хлорпромазина и его аналогов класса фенотиазинов, но не других лекарственных соединений. Так, степень извлечения фенотиазинов из водного раствора убывала в ряду:

хлорпромазин (81,4%) > перфеназин (63,7%) > прометазин (61,9%) >> эритромицин, энрофлоксацин.

Свойственная полученному полимеру классовая селективность позволяет сделать вывод о наличии в его структуре молекулярных отпечатков, комплементарных фенотиазиновому фрагменту. МИП хорошо сорбировал хлорпромазин из водного раствора (сорбционная емкость – 10 мг/г МИП). Полимер был применен для экстракции хлорпромазина из мочи свиньи, степень извлечения 5 мкг/мл лекарственного соединения составила 74,2%. Сравнение с коммерческой колонкой (С18) для твердофазной экстракции показало, что применение картриджей с МИП обеспечивает большую степень извлечения хлорпромазина из мочи, поэтому предпочтительнее для этой цели.

Другой путь основан на сочетании МИП с высокочувствительным инструментальным методом, в том числе в сенсорном варианте. Так, для определения прометазина в крови методом квадратно-волновой вольтамперометрии использовано покрытие электрода из углеродной пасты пленкой МИП [56]. МИП обеспечивал селективное извлечение и предконцентрирование прометазина на электроде. Сравнение двух систем для получения МИП (метакриловая кислота – ЭГДМА и винилбензол – дивинилбензол) выявило большую неспецифическую поверхностную сорбцию прометазина при использовании первой системы и вследствие этого ее непригодность. Для определения прометазина успешной оказалась трехстадийная схема, включающая экстракцию аналита в пленку МИП, промывку электрода и измерение сигнала. Промывка электрода способствовала увеличению селективности методики определения прометазина без потери в чувствительности. Были установлены два динамических диапазона определяемых содержаний: $7 \cdot 10^{-9}$ – $4 \cdot 10^{-7}$ и $4 \cdot 10^{-7}$ – $7 \cdot 10^{-6}$ М. Методика характеризовалась низким пределом обнаружения прометазина – $3,2 \cdot 10^{-10}$ М. Правильность результатов определения прометазина в сыворотке крови была подтверждена методом ВЭЖХ. На основе молекулярно отпечатанного сополимера винилбензола и дивинилбензола авторы разработали также потенциометрический сенсор, позволяющий определять

прометазин в диапазоне концентраций $5 \cdot 10^{-7}$ – $1 \cdot 10^{-1}$ М [57]. Из 12 изученных органических соединений и неорганических ионов все, за исключением хлорпрометазина (В) ($\log k_{A,B}^{\text{пот}} = 2,1$), не мешали определению прометазина (А) ($\log k_{A,B}^{\text{пот}} \geq 2,9$). Результаты определения прометазина в лекарственном сиропе, полученные с использованием предложенного сенсора, были подтверждены спектрофотометрическим методом. При анализе сыворотки крови степень извлечения прометазина в зависимости от концентрации варьировала в пределах 96–110%.

В работе [58] потенциометрический сенсор разработан на основе полимера с молекулярными отпечатками хлорпромазина. Для получения искусственного рецептора авторы изучили разные мономеры: метакриловую кислоту, 2-винилпиридин, 2-акриламидо-2-метил-1-пропансульфоновую кислоту. Сенсор, содержащий МИП на основе метакриловой кислоты, обеспечивает наибольшую селективность и лучшие аналитические характеристики электрода. Для повышения селективности хемилюминесцентного метода предложено сочетание с МИП [59]. Авторы наблюдали возобновление хемилюминесценции при введении фенотиазинов в систему после окончания реакции между люминолом и гексацианоферратом (III) калия. Это явление они использовали для определения хлорпромазина в проточной системе. Введение стадии извлечения хлорпромазина с помощью МИП на основе метакриловой кислоты способствовало снижению мешающего влияния матричных компонентов мочи. Разработанную методику успешно применили для определения шести фенотиазинов. Диапазон определяемых концентраций и предел обнаружения хлорпромазина составили соответственно $1 \cdot 10^{-8}$ – $1 \cdot 10^{-6}$ г/мл и $3 \cdot 10^{-9}$ г/мл. Методику применили для определения хлорпромазина в моче пациентов и питьевой воде для животных.

Использование МИП в качестве рецептора и описанного эффекта возобновления хемилюминесценции позволило авторам разработать сенсор для определения перфеназина [60]. Предложенный сенсор обладал хорошими метрологическими характеристиками: диапазон определяемого содержания перфеназина составил $5 \cdot 10^{-8}$ – $1 \cdot 10^{-5}$ г/мл, предел обнаружения – $2 \cdot 10^{-8}$ г/мл, относительное стандартное отклонение при содержании перфеназина $1 \cdot 10^{-6}$ г/мл составило 0,037. Применение МИП, специфически распознающего перфеназин, прозвонило определить его в присутствии 10–5000-кратных избытков компонентов мочи, мешающих определению обычным хемилюминесцентным методом.

Третий путь использования МИП для селективного определения фенотиазинов в биологических объектах заключается в их сочетании с масс-спектрометрией [61]. МИП может выступать в качестве поверхности, селективно извлекающей аналит из объекта и удерживающей его на стадиях десорбции/ионизации в масс-спектрометрии. С помощью этого подхода при использовании хлорпромазин-отпечатанного полимера на основе метакриловой кислоты удалось определить 5 фенотиазинов (хлорпромазин, перфеназин, трифлупромазин, тиоридазин, прохлорперазин) в моче с нижней границей определяемых содержаний ~ 1 мкМ.

Не менее важна проблема определения фенотиазинов в фармацевтических препаратах. Известно, что два энантиомера лекарственного соединения могут обладать разной фармакологической активностью, один из них даже может быть токсичным. В связи с этим важно установление не только количественного, но и энантиомерного состава препарата фенотиазина. Для разделения энантиомеров фенотиазинов эффективными оказались циклодекстрины. Энантиомеры тиоридазина в форме таблеток «Тиорил» были успешно разделены методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с использованием неподвижной фазы на основе β -ЦД [62]. Предел обнаружения тиоридазина составил 10 мкг (5 мкг каждого энантиомера).

Для определения прометазина в фармацевтических препаратах и моче разработан потенциометрический сенсор на основе пластифицированной ПВХ-мембраны, содержащей β -ЦД [63]. Диапазон определяемых содержаний прометазина составляет $1 \cdot 10^{-5}$ – $1 \cdot 10^{-2}$ М, предел обнаружения – $5,3 \cdot 10^{-6}$ М. Сенсор обладает хорошей селективностью в отношении прометазина (А) ($\log k_{A,B}^{\text{пот}} \geq -2,85$) в присутствии катионов металлов, а также органических соединений – сахаров и структурного аналога – трифторперазина (В). Предложенный сенсор обеспечивает правильность определения прометазина в реальных объектах без пробоподготовки при хорошей воспроизводимости результатов ($s_r < 0,025$).

Серосодержащие соединения

Серосодержащие соединения нефти относятся к трудноокисляемым субстратам оксидоредуктаз, в частности пероксидазы хрена и хлоропероксидазы. Токсичные серосодержащие соединения, попадая в почву при разливе нефти, представляют угрозу для окружающей среды; а при сгорании эти соединения образуют ядовитые оксиды серы, которые становят-

ся компонентами кислотных дождей. В связи с этим важную задачу представляет определение серосодержащих соединений в нефти и нефтепродуктах, а также в объектах окружающей среды. Однако из-за сложности матриц указанных объектов эта задача чрезвычайно трудна. Дополнительной трудностью является то, что для определения нерастворимых в воде серосодержащих соединений необходимо использование в ходе анализа органических сред. Поскольку в литературе по переработке нефти в качестве модельных серосодержащих соединений широко применяют дибензотиофен (ДБТ) и тиоанизол (субстраты пероксидазы хрена), мы особо остановимся на обсуждении вопросов извлечения этих соединений (рис. 8).

В литературе нет сведений о применении комплексов серосодержащих соединений с искусственными рецепторами для целей анализа. Однако результаты проведенных исследований могут быть полезны для решения таких задач аналитической химии, как селективная твердофазная экстракция серосодержащих соединений из сложных матриц и разработка сенсоров для их определения.

Дибензотиофен и его производные. Одним из способов удаления серосодержащих гетероциклических соединений (производных ДБТ) из топлив является метод адсорбции. При этом основным требованием, предъявляемым к сорбентам, является селективное извлечение органической серы в присутствии большого избытка ароматических соединений. Кроме того, для эффективной очистки топлива сорбенты должны обладать высокой емкостью. Таким требованиям удовлетворяют МИП. Для селективного извлечения ДБТ из топлива предложено использование хитозана с молекулярными отпечатками, сшитого эпихлоргидрином [64]. Преимуществом хитозана является его природное происхождение, а также наличие большого количества реакционноспособных NH_2 - и OH -групп. Атом серы ДБТ, несущий частично отрицательный заряд, может электростатически взаимодействовать с аминогруппой хитозана, способствуя селективному распознаванию ДБТ в процессе адсорбции. Полученный материал обладает хорошей

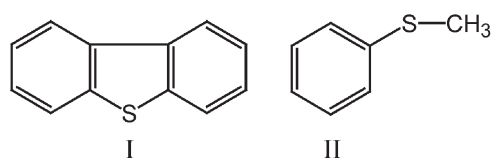


Рис. 8. Структурные формулы серосодержащих соединений: ДБТ (I) и тиоанизола (II)

распознающей способностью ($IF = 2,45$) и высокой сорбционной емкостью ($22,69$ мг/г). Применение хитозана с молекулярными отпечатками ДБТ позволило снизить содержание серы в газойле со 145 до 109 мг/г за 7 ч. Важно отметить, что сорбционная емкость полимера не снижалась в течение 10 циклов адсорбции – регенерации. На основании изучения кинетики процесса адсорбции ДБТ на МИП авторы сделали вывод о протекании многослойной адсорбции и установили, что скоростylimитирующей стадией является массоперенос, а не химическая адсорбция. Таким образом, использование хитозана с молекулярными отпечатками обеспечивает опосредованное удаление серы из газойля.

Молекулярные отпечатки в МИП, полученных традиционным способом, расположены глубоко в объеме полимера, что затрудняет удаление и повторную сорбцию темплата. Для решения этой проблемы предложен способ молекулярного импринтинга поверхности, заключающийся в конструировании распознающих участков МИП на поверхности подложки. Полученные при этом молекулярные отпечатки доступны для взаимодействия с темплом, а скорость массообмена высока. Полимер, содержащий молекулярные отпечатки ДБТ, был синтезирован путем полимеризации метакриловой кислоты на поверхности наночастиц TiO_2 [65]. Полученный полимер обладал большей селективностью, чем НИП, что свидетельствовало об успешном проведении импринтинга. Изучение конкурентной сорбции на МИП ДБТ и бензотиофена, а также ДБТ и 4-метилдибензотиофена выявило большую сорбцию темплата (в $1,53$ и $1,09$ раза соответственно). В работе [66] был получен ДБТ-распознающий полимер на поверхности углеродных микросфер. Сорбционное равновесие устанавливалось за 5 ч, сорбционная емкость материала составила $0,595$ ммоль/г. Адсорбция ДБТ на полученном МИП описывалась изотермой Ленгмюра и, видимо, являлась монослойной по специфическим гомогенным распознающим участкам. Кинетическое изучение выявило псевдвторой порядок скорости адсорбционного процесса.

Метод адсорбции можно также использовать в сочетании с окислительным обессериванием топлива. При этом неполярные сернистые соединения сначала окисляются, после чего полярные продукты (сульфоксиды и сульфоны) удаляются путем адсорбции. Наличие у хитозана функциональных групп, способных к образованию водородных связей с продуктом окисления ДБТ–ДБТ сульфеном ($ДБТО_2$), может действовать формированию комплементарных моле-

кулярных отпечатков и повышать селективность распознавания соединения-темплата. Гидрогель хитозана, содержащий молекулярные отпечатки $ДБТО_2$, был получен путем сшивки глутаровым альдегидом в работе [67]. Гидрогель, благодаря наличию гомогенной полимерной матрицы со специфическими распознающими участками, обладает большей селективностью по отношению к $ДБТО_2$, чем не содержащий молекулярных отпечатков аналог. Гидрогель способен селективно сорбировать $ДБТО_2$ и ДБТ, но не флуорен и 4,6-диметил ДБТ. Адсорбция $ДБТО_2$ монослойна с константой аффинности, на два порядка превышающей таковую в случае гидрогеля сравнения.

Использование флуоресцентной спектроскопии показало, что $ДБТО_2$ адсорбируется на гидрогеле в виде димерных комплексов, что соответствует минимальной энергии конформации отпечатанного хитозана при выбранной температуре [68]. Авторы установили интересный факт: гидрогель с молекулярными отпечатками обладает конформационной памятью при температуре, соответствующей температуре его синтеза.

В работе [69] для получения МИП синтезирован рецептор, способный образовывать комплекс с $ДБТО_2$ при помощи водородных связей. Применение в качестве мономера указанного рецептора привело к двукратному увеличению импринтинг-эффекта по сравнению с метакриловой кислотой. Сшивающим агентом в обоих случаях был дивинилбензол.

Однако эксперименты по изучению селективности полученного МИП показали, что лиганды схожей структуры, не содержащие кислород (ДБТ, бензотиофен и флуорен), адсорбируются на нем лучше, чем $ДБТО_2$. Это может быть вызвано взаимодействием ароматических соединений с полимерной матрицей дивинилбензола. Замена дивинилбензола на ЭГДМА способствовала увеличению адсорбции $ДБТО_2$ (с $8,14$ до $12,21$ мг/г полимера).

Для селективного извлечения ДБТ и его аналогов из углеводородных смесей может быть полезно образование комплексов с ЦД. Кроме того, включение ДБТ в такие комплексы может способствовать повышению чувствительности его флуоресцентного определения за счет ограничения вращения его молекулы. Однако, несмотря на явные перспективы прикладного использования инклюзионных комплексов ДБТ, в литературе в настоящее время имеются сведения лишь о принципиальной возможности получения таких комплексов. В работе [70] были исследованы 18 O-, S- и N-содержащих гетероциклических соединений, и разработана математическая модель для предска-

ния стабильности их комплексов с β -ЦД. Авторы показали, что присутствие атома серы в гетероциклической структуре способствует стабилизации комплекса типа «гость»-«хозяин». Кроме того, комплексы дибензопроизводных гетероциклических соединений отличались большей стабильностью по сравнению с монобензопроизводными. В работе [71] был проведен поиск закономерностей структура – свойство для описания комплексообразования различных полициклических ароматических соединений с α -, β -, γ -ЦД и их *n*-диметиламинобензоилпроизводными. В системах с производным α -ЦД преобладали стерические эффекты, в то время как в системах с производным β -ЦД – электростатические. Статистически значимых моделей для комплексов γ -ЦД, обладающих наибольшей конформационной подвижностью цикла, авторам построить не удалось.

Тиоанизол. Тиоанизол – широко используемое модельное соединение ряда ароматических сульфидов. Энантиселективное окисление тиоанизола и его производных представляет собой важную задачу, поскольку энантиоочищенные сульфоксиды являются исходными компонентами органического синтеза, их также используют в качестве лекарственных соединений. Для проведения энантиселективного окисления тиоанизола применяют различные катализаторы, в том числе ферменты [72, 73]. Однако наряду с селективным окислением тиоанизола встает задача селективного разделения и определения продуктов в рацемической смеси. Для этого используют газовую хроматографию с неподвижными фазами, способными к молекулярному распознаванию [74, 75].

В работе [76] для разделения рацемической смеси сульфоксидов и эфиров сульфоновых кислот предложен метод капиллярной газовой хроматографии с хиральными неподвижными фазами на основе ЦД. Сравнение четырех хиральных неподвижных фаз позволило выявить некоторые закономерности. Лучшими неподвижными фазами для разделения *m*-замещенных сульфоксидов были фазы, содержащие производные γ -ЦД. В случае эфиров сульфоновых кислот, а также *o*-замещенных энантиомеров метилфенилсульфоксидов лучшую энантиселективность обеспечивала неподвижная фаза на основе гептакис-2,6-ди-*O*-метил- β -ЦД. Наилучшая селективность в отношении большинства изученных сульфоксидов и эфиров сульфоновых кислот наблюдалась при использовании неподвижной фазы ChiraldexTM G-TA, содержащей 2,6-ди-*O*-пентил-3-трифторацетил- γ -ЦД. Газовую хроматографию с хиральными неподвижными фазами широко используют для разделения энан-

тиомеров сульфоксидов тиоанизола в различных исследованиях по сульфоксидированию.

ЦД оказались полезны также для решения задачи энантиселективного окисления тиоанизола. Авторы [77] предложили способ энантиселективного окисления алкиларилсульфидов в кристаллических комплексах с ЦД. Максимальный абсолютный выход сульфоксида (98%) наблюдался при окислении перуксусной кислотой тиоанизола в комплексе с β -ЦД в инертной атмосфере, однако энантиомерный избыток не был высоким (15%). Максимальный энантиомерный избыток продукта (81%) был получен в случае метил-1-нафтилсульфида. В обоих случаях образовывался S-(-)-сульфоксид без побочного образования сульфона.

Применение искусственных рецепторов (макроциклических соединений и МИП) позволяет решать разные задачи (табл. 2). Так, макроциклические соединения, в особенности каликсарены, характеризуются высокой специфичностью, поэтому наиболее пригодны для индивидуального определения различных соединений. В связи с этим их широко используют в качестве ионофоров, и они обеспечивают высокую селективность и чувствительность электродов, часто достаточную для определения аналитов без предварительной подготовки пробы. Кроме того, ЦД, обладающие фиксированным размером полости, пригодны для разделения рацемических смесей, а также для проведения энантиселективных синтезов. Однако, несмотря на высокую селективность, макроциклические соединения не позволяют концентрировать большие количества целевого соединения и не пригодны в качестве сорбционных материалов. Это связано с тем, что типичная стехиометрия инклюзионных комплексов – 1:1. Напротив, МИП, содержащие большое количество полостей заданного размера, успешно используют для выделения и предконцентрирования целевых соединений из матриц сложного состава. В связи с тем, что МИП часто обладают классовой селективностью, они пригодны для разделения смесей соединений различных классов. Инертность МИП к действию органических растворителей делает их перспективными сорбентами для работы в неводных средах.

Таким образом, искусственные рецепторы обеспечивают селективность определения соединений различных классов и перспективны для совместного использования с ферментами при создании биосенсоров нового поколения, позволяющих чувствительно и селективно определять органические соединения в матрицах сложного состава, в том числе нерастворимых в воде.

Т а б л и ц а 2

Применение искусственных рецепторов для определения субстратов пероксидаз в различных объектах

Рецептор	Роль рецептора	Задача использования	Аналит	Среда (объект)	Ссылка
α -, β -ЦД	лиганд	селективное распознавание <i>m</i> - и <i>n</i> -изомеров	нитрофенолы	водная	[16]
	та же	извлечение и предконцентрирование	фенолы	водная (сточные воды)	[19]
β -ЦД	та же	энантиоселективное окисление	тиоанизол	водная	[77]
	сенсорный элемент электрода	извлечение и предконцентрирование	флавоноиды	водная (анализ мочи)	[35]
	та же	селективное распознавание в присутствии соединений других классов (в том числе аскорбиновой кислоты)	катехоламины	водная	[46 – 49]
	та же	селективное распознавание в присутствии других соединений (в том числе фенотиазинов)	прометазин	водная (лекарственные препараты, биообъекты)	[63]
Каликсарен	неподвижная фаза для ВЭЖХ	разделение энантиомеров	тиоридазин	неводная	[62]
	хиральная неподвижная фаза для ГХ	та же	тиоанизол	та же	[76]
	сенсорный элемент электрода	селективное распознавание <i>n</i> -изомера	нитрофенолы	водная	[17]
	та же	селективное распознавание в присутствии других катехоламинов	допамин	водная (возможен анализ биообъектов)	[44]
	та же	та же	адреналин	водная	[45]
	та же	та же	катехоламины	та же	[40, 50]
	экстрагент	селективная жидкостно-жидкостная экстракция	катехоламины	та же	[51]

Продолжение табл. 2

МИП	сенсорный элемент электрода	селективное распознавание в присутствии других соединений (в том числе катехоламинов)	допамин	водная (биообъекты)	[38, 42]
	та же	селективное извлечение и предконцентрирование	прометазин	водная (лекарственные препараты, биообъекты)	[56, 57]
	сорбент	та же	фенолы	водная (воды различного происхождения)	[20, 24]
	та же	селективная твердофазная экстракция	кверцетин	неводная (метанольный экстракт из травы)	[27]
	та же	предварительная твердофазная экстракция	флавоноиды	неводная (анализ напитков)	[32, 33]
	та же	определение методом проточного анализа	флавонол	неводная (анализ липофильных объектов)	[34]
	та же	предконцентрирование и селективное извлечение (проточно-инжекционный анализ)	адреналин	водная (сыворотка крови)	41]
	та же	селективное извлечение (проточно-инжекционный анализ)	фенотиазины	водная (питьевая вода для животных, моча)	[59]
	та же	селективное извлечение твердофазной экстракцией и предконцентрирование	фенотиазины	водная (моча)	[55]
	та же	селективное извлечение	дибензотиофен	неводная (топливо)	[64 – 69]
	катализатор (биомиметик)	селективное окисление	о-дифенолы	водная (воды различного происхождения)	[25]
	неподвижная фаза для ВЭЖХ	разделение смесей структурно родственных соединений	флавоноиды	водная	[28]
	подложка (масс-спектрометрия)	селективное извлечение	фенотиазины	водная (моча)	[61]

Примечание. ГХ – газовая хроматография, ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Leyton P., Domingo C., Sanchez-Cortes S., Campos-Vallette M., Diaz G.F., Garcia-Ramos J.V. // *Vib. Spectrosc.* 2007. **43**. P. 358.
2. Li S., Purdy W.C. // *Chem. Rev.* 1992. **92**. P. 1457.
3. Buschmann H.-J., Cleve E., Schollmeyer E. // *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* 1999. **33**. P. 233.
4. Vitovic P., Nikolelis D.P., Hianik T. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2006. **1758**. P. 1852.
5. Vieira Ferreira L.F., Vieira Ferreira M.R., Oliveira A.S., Moreira J.C. // *J. Photochem. Photobiol., A.* 2002. **153**. P. 11.
6. Гендриксон О.Д., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. // *Усп. Биол. Хим.* 2006. **46**. С. 149.
7. Lulicski P., Maciejewska D., Bamburowicz-Klimkowska M., Szutowski M. // *Molecules.* 2007. **12**. P. 2434.
8. Kim H.-J., Chang S.-C., Shim Y.-B. // *Bull. Korean Chem. Soc.* 2002. **23**. N 3. P. 427.
9. Zakaria N.D., Yusof N.A., Haron J., Abdullah A.H. // *Int. J. Mol. Sci.* 2009. **10**. P. 354.
10. Landy D., Fourmentin S., Salome M., Surpateanu G. // *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* 2000. **38**. P. 187.
11. Buvvari A., Barcza L. // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II.* 1988. N 4. P. 543.
12. Sueishi Y., Miyakawa T. // *J. Phys. Org. Chem.* 1999. **12**. P. 541.
13. Chelli S., Majdoub M., Jouini M., Aeiyaeh S., Maurel F., Chane-Ching K.I., Lacaze P.-C. // *J. Phys. Org. Chem.* 2007. **20**. P. 30.
14. Kunsagi-Mate S., Szabo K., Desbat B., Bruneel J.-L., Bitter I., Kollar L. // *J. Phys. Chem., B.* 2007. **111**. P. 7218.
15. Kunsagi-Mate S., Szabo K., Lemli B., Bitter I., Nagy G., Kollar L. // *J. Phys. Chem. B.* 2004. **108**. P. 15519.
16. Almirall E., Fragoso A., Cao R., Gonzalez-Jonte R. // *Supramol. Chem.* 2003. **15**. N 6. P. 417.
17. Ocicka K., Radecka H., Radecki J., Pietraszkiewicz M., Pietraszkiewicz O. // *Sens. Actuators, B.* 2003. **89**. P. 217.
18. Tingry S., Innocent C., Touil S., Deratani A., Seta P. // *Mater. Sci. Eng., C.* 2006. **26**. P. 222.
19. Abay I., Denizli A., Biskin E., Salih B. // *Chemosphere.* 2005. **61**. P. 1263.
20. Qi P., Wang J., Jin J., Su F., Chen J. // *Talanta.* 2010. **81**. P. 1630.
21. El-Sheikh A.H., Al-Quse R.W., El-Barghouthi M.I., Al-Masri F.S. // *Talanta.* 2010. **83**. P. 667.
22. Qi P., Wang J., Wang L., Li Y., Jin J., Su F., Tian Y., Chen J. // *Polymer.* 2010. **51**. P. 5417.
23. Caro E., Marce R.M., Cormack P.A.G., Sherrington D.C., Borrull F. // *J. Chromatogr., A.* 2003. **995**. P. 233.
24. Feng Q., Zhao L., Lin J.-M. // *Anal. Chim. Acta.* 2009. **650**. P. 70.
25. Sergeyeva T.A., Slinchenko O.A., Gorbach L.A., Matyushov V.F., Brovko O.O., Piletsky S.A., Sergeeva L.M., Elska G.V. // *Anal. Chim. Acta.* 2010. **659**. P. 274.
26. Sergeyeva T.A., Gorbach L.A., Slinchenko O.A., Goncharova L.A., Piletska O.V., Brovko O.O., Sergeeva L.M., Elska G.V. // *Mater. Sci. Eng., C.* 2010. **30**. P. 431.
27. Song X., Li J., Wang J., Chen L. // *Talanta.* 2009. **80**. P. 694.
28. Xia Y.-Q., Guo T.-Y., Song M.-D., Zhang B.-H., Zhang B.-L. // *React. Funct. Polym.* 2006. **66**. P. 1734.
29. Tasselli F., Donato L., Drioli E. // *J. Membrane Sci.* 2008. **320**. P. 167.
30. Ma X., Chen R., Zheng X., Youn H., Chen Z. // *Polym. Bull.* 2011. **66**. P. 853.
31. Weiss R., Molinelli A., Jakusch M., Mizaikoff B. // *Bioseparation.* 2002. **10**. P. 379.
32. Molinelli A., Weiss R., Mizaikoff B. // *J. Agric. Food Chem.* 2002. **50**. P. 1804.
33. Theodoridis G., Lasakova M., Skerikova V., Tegou A., Giantsiou N., Jandera P. // *J. Sep. Sci.* 2006. **29**. P. 2310.
34. Suarez-Rodriguez J.L., Diaz-Garcia M.E. // *Anal. Chim. Acta.* 2000. **405**. P. 67.
35. He J.-L., Yang Y., Yang X., Liu Y.-L., Liu Z.-H., Shen G.-L., Yu R.-Q. // *Sens. Actuators, B.* 2006. **114**. P. 94.
36. Jin J.-H., Kwon C., Park W., Kim S., Jung S. // *J. Electroanal. Chem.* 2008. **623**. P. 142.
37. Jin J.-H., Kim H., Jung S. // *Biotechnol. Lett.* 2009. **31**. P. 1739.
38. Prasad B.B., Srivastava S., Tiwari K., Sharma P.S. // *Biochem. Eng. J.* 2009. **44**. P. 232.
39. Parker D., Katakly R., Kelly P.M., Palmer S. // *Pure Appl. Chem.* 1996. **68**. N 6. P. 1219.
40. Nikolelis D.P., Siontorou C.G., Theoharis G., Bitter I. // *Electroanalysis.* 2005. **17**. N 10. P. 887.
41. Du J., Shen L., Lu J. // *Anal. Chim. Acta.* 2003. **489**. P. 183.
42. Gomez-Caballero A., Ugarte A., Sanchez-Ortega A., Unceta N., Goicolea M.A., Barrio R.J. // *J. Electroanal. Chem.* 2010. **638**. P. 246.
43. Odashima K., Yagi K., Tohda K., Ummezawa Y. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1999. **9**. P. 2375.
44. Odashima K., Yagi K., Tohda K., Ummezawa Y. // *Anal. Chem.* 1993. **65**. P. 1074.
45. Yeo H., Lee H.K., Nam K.C., Jeon S. // *Bull. Korean Chem. Soc.* 2004. **25**. N 3. P. 361.
46. Harley C.C., Rooney A.D., Breslin C.B. // *Sens. Actuators, B.* 2010. **150**. P. 498.
47. Wang G., Liu X., Yu B., Luo G. // *J. Electroanal. Chem.* 2004. **567**. P. 227.
48. Kong B., Zeng J., Luo G., Luo S., Wei W., Li J. // *Bioelectrochemistry.* 2009. **74**. P. 289.
49. Yin T., Wei W., Zeng J. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2006. **386**. P. 2087.
50. Nikolelis D.P., Theoharis G. // *Bioelectrochemistry.* 2003. **59**. P. 107.
51. Oshima T., Oishi K., Ohto K., Inoue K. // *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* 2006. **55**. P. 79.
52. Ling T.-R., Syu Y.Z., Tasi Y.-C., Chou T.-C., Liu C.-C. // *Biosens. Bioelectron.* 2005. **21**. P. 901.
53. Suedee R., Seechamnanturakit V., Canyuk B., Ovatlarnporn C., Martin G.P. // *J. Chromatogr., A.* 2006. **1114**. P. 239.
54. Hsu C.-W., Yang M.-C. // *Sens. Actuators, B.* 2008. **134**. P. 680.
55. Song S., Shi X., Li R., Lin Z., Wu A., Zhang D. // *Proc. Biochem.* 2008. **43**. P. 1209.
56. Alizadeh T., Akhoundian M. // *Electrochim. Acta.* 2010. **55**. P. 5867.
57. Alizadeh T., Akhoundian M. // *Electrochim. Acta.* 2010. **55**. P. 3477.
58. Moreira F.T.C., Sales M.G.F. // *Mater. Sci. Eng., C.* 2011. **31**. P. 1121.
59. Niu W., Feng N., Nie F., Lu J. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2006. **385**. P. 153.

60. Niu W., Nie F., Lu J. // *Anal. Sci.* 2006. **22**. P. 971.
61. Figueiredo E.C., Sanvido G.B., Arruda M.A.Z. Eberlin M.N. // *Analyst*. 2010. **135**. P. 726.
62. Bhushan R., Gupta D. // *J. Chromatogr., B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2006. **837**. P. 133.
63. Hassan A.K., Saad B., Ghani S.A., Adnan R., Rahim A.A., Ahmad N., Mokhtar M., Ameen S.T., Al-Araji S.M. // *Sensors*. 2011. **11**. N 1. P. 1028.
64. Chang Y., Zhang L., Ying H., Li Z., Lv H., Ouyang P. // *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2010. **160**. N 2. P. 593.
65. Xu P., Xu W., Zhang X., Yan Y.A. // *Microchim. Acta.* 2010. **171**. P. 441.
66. Yang Y., Liu X., Guo M., Li S., Liu W., Xu B. // *Colloids Surf., A*. 2011. **377**. P. 379.
67. Aburto J., Mendez-Orozco A., Le Borgne S. // *Chem. Eng. Process.* 2004. **43**. P. 1587.
68. Aburto J., Le Borgne S. // *Macromolecules*. 2004. **37**. P. 2938.
69. Castro B., Whitcombe M.J., Vulfson E.N., Vazquez-Duhalt R., Barzana E. // *Anal. Chim. Acta.* 2001. **435**. P. 83.
70. Carpignano R., Marzona M., Cattaneo E., Quaranta S. // *Anal. Chim. Acta.* 1997. **348**. P. 489.
71. Suzuki T., Ishida M., Fabian W.M.F. // *J. Comput.-Aided Mol. Des.* 2000. **14**. P. 669.
72. Pezzotti F., Therisod M. // *Tetrahedron: Asymmetry*. 2007. **18**. P. 701.
73. Tuynman A., Vink M.K.S., Dekker H.L., Schoemaker H.E., Wever R. // *Eur. J. Biochem.* 1998. **258**. P. 906.
74. Kadnikova E.N., Kostic N.M. // *J. Non-Cryst. Solids*. 2001. **283**. P. 63.
75. Shainsky J., Derry N.-L., Leichtmann-Bardoogo Y., Wood T.K., Fishman A. // *Appl. Environ. Microbiol.* 2009. **75**. N 14. P. 4711.
76. Anderson J.L., J. Ding, R. D. McCulla, W.S. Jenks, D. W. Armstrong. // *J. Chromatogr. A*. 2002. **946**. P. 197.
77. Sakuraba H., Natori K., Tanaka Y. // *J. Org. Chem.* 1991. **56**. N 13. P. 4124.

Поступила в редакцию 20.05.12

THE POSSIBILITIES OF ARTIFICIAL RECEPTORS TO ENHANCE THE SELECTIVITY OF OXYDOREDUCTASE SUBSTRATES DETERMINATION

N.V. Borzenkova, I.A. Veselova, T.N. Shekhovtsova

(Division of Analytical Chemistry)

Prospects of the application of molecular recognition with artificial receptors (macrocyclic compounds and molecularly imprinted polymers) for the creation of sensors for the determination of biologically active compounds – oxydoreductase substrates in samples with complex matrices are discussed in this review. Data on the preparation, properties and analytical application of complexes of the mentioned artificial receptors with analytes – organic compounds of different classes, are systematized for the first time. Special attention is paid to the discussion of approaches which provide the receptor specificity towards analytes due to molecular recognition.

Key words: *oxydoreductase substrates, molecularly imprinted polymers, macrocyclic compounds, molecular recognition.*

Сведения об авторах: *Борзенкова Наталья Витальевна* – аспирант кафедры аналитической химии химического факультета МГУ (nvborzenkova@gmail.com); *Веселова Ирина Анатольевна* – доцент кафедры аналитической химии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (irina.veselova@mail.ru); *Шеховцова Татьяна Николаевна* – профессор кафедры аналитической химии химического факультета МГУ, докт. хим. наук (tnshekh@yandex.ru).