

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Уральский федеральный университет имени
первого Президента России Б.Н. Ельцина»

На правах рукописи



Дубровский Дмитрий Игоревич

**ХИРАЛЬНЫЕ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЕ СЕНСОРЫ НА
ОСНОВЕ КОМПОЗИТОВ ХИТОЗАНА ДЛЯ РАСПОЗНАВАНИЯ И
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭНАНТИОМЕРОВ АТЕНОЛОЛА И ТИРОЗИНА**

02.00.02 – Аналитическая химия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Екатеринбург – 2021

Работа выполнена на кафедре аналитической химии химического факультета ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет»

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Майстренко Валерий Николаевич

Официальные оппоненты: **Стожко Наталия Юрьевна**,
доктор химических наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Уральский государственный
экономический университет», г.
Екатеринбург, заведующая кафедрой
физики и химии;

Зиятдинова Гузель Камилевна,
доктор химических наук, доцент, ФГАОУ
ВО «Казанский (Приволжский)
федеральный университет», г. Казань,
профессор кафедры аналитической химии
Химического института им. А.М.
Бутлерова;

Герасимова Елена Леонидовна,
кандидат химических наук, доцент, ФГАОУ
ВО «Уральский федеральный университет
имени первого Президента России Б.Н.
Ельцина», г. Екатеринбург, доцент
кафедры аналитической химии Химико-
технологического института.

Защита состоится «06» апреля 2021 г. в 14:00 ч на заседании диссертационного совета УрФУ 05.06.17 по адресу: 620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19, ауд. И-420 (зал Ученого совета).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», <https://dissovet2.urfu.ru/mod/data/view.php?d=12&rid=1985>

Автореферат разослан «___» _____ 2021 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Семенищев Владимир Сергеевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Распознавание и определение энантиомеров лекарственных соединений - одна из наиболее важных задач аналитической и фармацевтической химии, клинического анализа, контроля качества пищевых продуктов и судебно-медицинской экспертизы. Известно, что основная масса синтетических лекарственных препаратов, представленных на рынке, является рацемической смесью энантиомеров, при этом один из энантиомеров может иметь желаемые физиологические, фармакологические, фармакодинамические и фармакокинетические свойства, в то время как другой энантиомер зачастую проявляет нежелательную роль и активность в биохимических процессах. Кроме того, разработка энантиочистых лекарственных средств, которые изначально были одобрены в виде рацематов, открыла новую рыночную стратегию, позволяющую производителю получить патент на отдельный энантиомер. В связи с этим необходим простой и экспрессный контроль энантиомерной чистоты веществ на различных стадиях производства и реализации лекарственных препаратов, пищевых добавок и т. д. В настоящее время для этих целей в основном используются спектральные и хроматографические методы, а также капиллярный электрофорез. Однако они недостаточно экспрессные, требуют наличия высококвалифицированных специалистов, являются относительно дорогими и не позволяют работать в полевых условиях *in situ*. Для простого и недорогого распознавания и определения энантиомеров биологически активных веществ все чаще используются электрохимические энантиоселективные сенсоры. Основными преимуществами таких сенсоров являются относительная простота конструкции, дешевизна оборудования и расходных материалов, а также возможность миниатюризации и применения сенсоров в режимах как *on line*, так и *in situ* непосредственно на контролируемом объекте.

Все это обуславливает необходимость поиска новых решений в области конструирования и исследования возможностей применения энантиоселективных вольтамперометрических сенсоров (ЭВС) и сенсорных систем, позволяющих решать конкретные аналитические задачи.

Степень разработанности темы исследования. Для электрохимической дискриминации аналитических откликов оптических изомеров необходимы электроды, модифицированные соответствующими хиральными селекторами. Существуют различные способы модифицирования электродов, включая формирование хиральных матриц на поверхности электрода, полимеры с молекулярными отпечатками, композитные материалы из проводящих полимеров и углеродных материалов и др. Хитозан представляет особый интерес в качестве

модификатора электродов, пленки которого используются для энантиоселективного распознавания лекарственных и биологически активных соединений из-за изначальной хиральности их поверхности. Однако растворимость и недостаточная стабильность пленок хитозана в водных растворах ограничивает их использование при создании хиральных электрохимических сенсоров. Для повышения эффективности распознавания энантиомеров обычно проводят структурную модификацию хитозана путем осаждения на поверхность электрода гидроксипропилхитозана, ковалентно связанного с многослойными углеродными нанотрубками и сульфированного хитозана, а также модификацию электродов пленками хитозана, легированными углеродными наноточками и графеном. Помимо гидроксипропил- и сульфированного хитозана существуют другие производные, такие как О-карбоксиметил- и N-карбоксиметилхитозан. Имеются сведения о высокой способности хитозана к хиральному распознаванию на основе его полиэлектролитных комплексов с натрий-карбоксиметилцеллюлозой и нанокристаллами целлюлозы. Эффективность хирального распознавания хитозана заметно повышается также при введении таких хиральных селекторов, как циклодекстрины, хорошо известные своей способностью образовывать стабильные комплексы включения хозяин-гость или при использовании хиральных наноструктурированных супрамолекулярных сборок органических и биологических молекул, образующихся за счет межмолекулярных взаимодействий. К сожалению, сами по себе циклодекстрины редко используются в качестве модификаторов в вольтамперометрических сенсорах из-за присущих им недостатков - плохой электропроводности и растворимости в воде. Следует заметить, что распознавание энантиомеров селекторами на основе полисахаридов в качестве хиральных элементов привлекает к себе большое внимание из-за их доступности и обширных источников получения, однако агрегация полисахаридов, обусловленная межмолекулярными взаимодействиями, снижает эффективность распознавания и ограничивает их практическое применение. Так, например, макромолекула поликатиона хитозана в водных растворах разбухает и повышается ее вязкость. Рационализировать подходы к созданию сенсоров на основе хитозана можно с применением композитных материалов.

В первой части работы изучен композит хитозана на основе новой электропроводящей подложки - полиэлектролитного комплекса (ПЭК) хитозана и структурно родственного ему сукцинамида хитозана. При этом на поверхности стеклоуглеродного электрода (СУЭ) формируются стабильные и тонкие пленки из электронейтральных комплексов хитозана, содержащих хиральные селекторы - α -, β -, γ -циклодекстрины (α -, β -, γ -ЦД), которые широко используются для распознавания и определения

энантиомеров лекарственных соединений, в том числе атенолола (Атн), для которого на данный момент описан лишь сенсор на основе полимера (метилметакрилата) с молекулярными отпечатками R-Атн без оценки его аналитических характеристик и возможностей практического применения. Это стимулирует развитие исследований, связанных с распознаванием и определением энантиомеров Атн и необходимостью создания простых по конструкции энантиоселективных сенсорных платформ.

Во второй части работы изучен ранее не описанный композит на основе ПЭК хитозана и нового хирального селектора - нанокластеров 3,4,9,10-перилентетракарбоневой кислоты (ПТКК), осажденных на поверхности графитированной термической сажи. Сравнительная оценка энантиоселективных, электрохимических и аналитических характеристик сенсора проведена на примере энантиомеров хорошо известной аминокислоты - тирозина (Тир).

Для повышения достоверности распознавания энантиомеров использовались хеометрические способы обработки данных - метод главных компонент (МГК) и проекция на латентные структуры (ПЛС), в том числе с дискриминантным анализом (ПЛС-ДА), основанные на большом массиве экспериментальных данных, полученных с использованием сенсорной системы

Цель работы: разработка хиральных вольтамперометрических сенсоров на основе композитов полиэлектrolитного комплекса хитозана с α -, β -, γ -циклодекстринами и нанокластерами 3,4,9,10-перилентетракарбоневой кислоты для распознавания и определения энантиомеров атенолола и тирозина, исследование их электрохимических характеристик и оценка аналитических возможностей.

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**:

1. Разработка сенсоров на основе СУЭ, модифицированных композитами полиэлектrolитного комплекса хитозана с α -, β -, γ -ЦД и нанокластерами ПТКК, оптимизация их состава.

2. Исследование морфологии поверхности и электрохимических характеристик разработанных сенсоров.

3. Изучение вольтамперометрического поведения энантиомеров атенолола и тирозина на предложенных сенсорах, оценка их энантиоселективности.

4. Распознавание и определение энантиомеров атенолола и тирозина с использованием сенсоров и сенсорной системы на основе СУЭ, модифицированных композитами полиэлектrolитного комплекса хитозана с α -, β -, γ -ЦД и нанокластерами ПТКК, в том числе в биологических жидкостях и смеси энантиомеров.

Научная новизна и теоретическая значимость работы:

1. Впервые в ЭВС в качестве модификаторов изучены новые композитные материалы на основе электронейтрального полиэлектролитного комплекса хитозана со структурно родственными ему сукцинамидами хитозана, что позволило сформировать на поверхности стеклоуглеродного электрода тонкие и стабильные в водных растворах электропроводящие пленки.

2. Впервые разработаны и изучены новые хиральные вольтамперометрические сенсорные платформы на основе стеклоуглеродных электродов, модифицированных композитами ПЭК хитозана с α -, β -, γ -ЦД для распознавания и определения энантиомеров атенолола, позволяющие контролировать их содержание в биологических жидкостях.

3. Установлено, что при объединении единичных сенсоров на основе композитов ПЭК хитозана с α -, β -, γ -циклодекстринами в сенсорную систему с обработкой данных измерений методом ПЛС-ДА, достоверность распознавания энантимеров атенолола по сравнению с единичными сенсорами существенно возрастает.

4. Впервые разработан и изучен вольтамперометрический сенсор на основе стеклоуглеродного электрода, модифицированного композитом ПЭК хитозана с новым хиральным селектором – нанокластерами 3,4,9,10-перилентетракарбоневой кислоты, осажденными на поверхности графитированной сажи Carbolblack C, для распознавания и определения энантиомеров тирозина в биологических жидкостях и смеси энантиомеров.

Практическая значимость:

1. Разработана относительно простая по конструкции и дешевая сенсорная система на основе СУЭ, модифицированных композитами ПЭК хитозана с α -, β -, γ -ЦД, проявляющая высокую специфичность и чувствительность к энантиомерам атенолола, для их экспрессного распознавания и определения в лекарственных средствах и биологических жидкостях. В литературе практически нет информации по применению ЭВС для распознавания и определения энантиомеров атенолола, за исключением нескольких работ по сенсорам более сложной конструкции на основе полимеров с молекулярными отпечатками.

2. Разработан простой и экспрессный сенсор на основе СУЭ, модифицированного композитом ПЭК хитозана с хиральными нанокластерами 3,4,9,10-перилентетракарбоневой кислоты, осажденными на поверхности графитированной сажи Carbolblack C, для распознавания и определения энантиомеров тирозина, имеющих высокие эксплуатационные и аналитические характеристики.

3. Показана и обоснована возможность практического применения разработанных ЭВС для определения и распознавания энантиомеров

атенолола и тирозина с высокой воспроизводимостью и правильностью в биологических жидкостях и растворах смеси энантиомеров.

Методология и методы исследований. Основными методами исследования в представленной диссертационной работе являются электрохимические методы, а также современные методы изучения морфологии поверхности электродов. С помощью циклической (ЦВ) и дифференциально-импульсной вольтамперометрии (ДИВ) и спектроскопии электрохимического импеданса (СЭИ) проведена оценка электрохимических и аналитических характеристик разработанных сенсоров, рассчитаны эффективные площади их поверхности, определены лимитирующие стадии электродных процессов и установлены условия регистрации аналитического сигнала. Морфология поверхности разработанных сенсоров изучена методами атомно-силовой микроскопии (АСМ) и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Для обработки экспериментальных данных использовались хеометрические методы (МГК, ПЛС и ПЛС-ДА).

Положения, выносимые на защиту:

1. Результаты исследования электрохимических и аналитических характеристик сенсоров на основе СУЭ, модифицированных композитами ПЭК хитозана с α -, β -, γ -ЦД и нанокластерами ПТКК, включая выбор оптимального состава композитов.

2. Результаты исследования морфологии поверхности СУЭ, модифицированных полимерными пленками ПЭК хитозана и его композитами с α -, β -, γ -ЦД и нанокластерами ПТКК.

3. Результаты энантиоселективного распознавания и определения энантиомеров атенолола с помощью сенсорной системы на основе СУЭ, модифицированных композитами ПЭК хитозана с α -, β -, γ -ЦД, в том числе в моче человека.

4. Результаты энантиоселективного распознавания и определения энантиомеров тирозина с использованием сенсора на основе композита ПЭК хитозана с хиральными нанокластерами ПТКК, осажденными на поверхности графитированной термической сажи, в том числе в моче и плазме крови человека, а также в смеси энантиомеров.

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность полученных данных определяется использованием в работе современных физико-химических методов исследования и высокотехнологичного оборудования, а также математической обработкой полученных результатов. Результаты исследований были представлены на научных конференциях: XXI Менделеевский съезд по общей и прикладной химии (Санкт-Петербург, 2019); V Юбилейная конференция МОБИ-ХимФарма 2019 (Судак, 2019); V Всероссийский симпозиум «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (Краснодар,

2018); X Международная школа-конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Фундаментальная математика и ее приложения в естествознании» (Уфа, 2018); IV Всероссийская молодежная конференция «Достижение молодых ученых: химические науки» (Уфа, 2018); Четвёртый Междисциплинарный Симпозиум по Медицинской, Органической и Биологической Химии и Фармацевтике. (Крым, 2018); III Всероссийская молодежная конференция «Проблемы и достижения химии кислород- и азотсодержащих биологически активных соединений» (Уфа, 2018); Третий съезд аналитиков России (Москва, 2017).

Диссертационная работа является частью исследований, проводимых на кафедре аналитической химии Башкирского государственного университета, поддержана грантами РНФ (№ 16-13-10257, № 19-73-10079) и РФФИ (№ 18-03-00537).

Публикации. По материалам диссертации автором опубликовано 13 работ, из них 3 статьи в рецензируемых научных изданиях, определенных ВАК и Аттестационным советом УрФУ, в том числе 2 статьи в рецензируемых журналах, входящих в базы цитирования Scopus и Web of Science. Представленные публикации в основном отражают содержание диссертации.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в проведении исследований и постановке задачи, в разработке сенсоров, изучении их электрохимических характеристик, проведении анализа энантиомеров атенолола и тирозина, статистической и хемометрической обработке полученных результатов, а также в написании статей и докладов по материалам исследований.

Объем и структура диссертации. Диссертация содержит введение, 3 главы, выводы и список цитируемой литературы, состоящий из 192 наименований. Работа изложена на 110 страницах машинописного текста, включая 31 рисунок и 9 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении изложены основные положения об актуальности и степени разработанности темы диссертационной работы, определены цели и задачи исследования, сформулирована научная новизна и практическая значимость, а также положения, выносимые на защиту диссертации.

В первой главе рассмотрены достижения в области разработки вольтамперометрических энантиоселективных сенсоров и сенсорных систем для распознавания оптических изомеров биологически активных соединений и лекарственных средств, новые подходы и решения по их разработке и практическому применению. Рассмотрены также основные способы определения энантиомеров лекарственных средств и биологически активных соединений. Описаны способы модифицирования

электродов энантиоселективными селекторами, аналитические характеристики некоторых сенсоров и сенсорных систем для распознавания и определения энантиомеров в различных объектах, применяемые хеометрические методы обработки экспериментальных данных – МГК, ПЛС.

Во второй главе представлены сведения о реактивах, материалах, методологической и инструментальной базе диссертационного исследования. Приведены методики модифицирования электродов, приготовления растворов, условия регистрации экспериментальных данных.

Третья глава включает в себя два основных раздела, посвященных определению и распознаванию энантиомеров атенолола и тирозина.

Раздел 3.1 посвящен разработке и исследованию сенсоров и сенсорной системы на основе СУЭ, модифицированных композитами ПЭК хитозана с α -, β -, γ -ЦД, для распознавания и определения энантиомеров атенолола, для которых на данный момент в литературе описан лишь сенсор более сложной конструкции на основе полимера метилметакрилата с молекулярными отпечатками R-атенолола.

Для разработки сенсоров, имеющих высокую воспроизводимость и энантиоселективность, были выполнены исследования по установлению оптимального состава компонентов модификатора. Критериями оптимальности служили значения токов пиков редокс-пары $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$, а также их относительное стандартное отклонение и энантиоселективность ($i_{\text{pR}}/i_{\text{pS}}$). Наименьшее относительное стандартное отклонение и наибольшая энантиоселективность наблюдались при использовании композита, содержащего 5 г/л ЦД. Оптимальный объем наносимого на поверхность СУЭ модификатора составил 10 мкл.

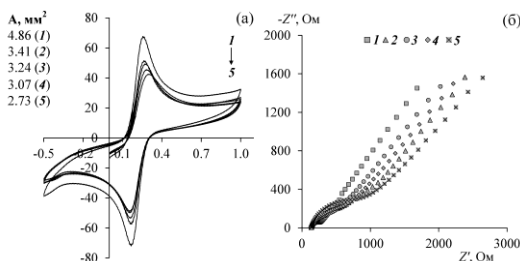


Рисунок 1 – (а) ЦВ и (б) Диаграммы Найквиста 5.0 mM раствора $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (1:1) на фоне 0.1 M KCl на различных электродах:
 1 – СУЭ;
 2 – СУЭ/ПЭК- α -ЦД;
 3 – СУЭ/ ПЭК- β -ЦД;
 4 – СУЭ/ПЭК- γ -ЦД;
 5 – СУЭ/ПЭК

Для проверки возможности использования предложенных сенсоров в хиральном анализе были выполнены исследования с помощью ЦВ и СЭИ с использованием стандартной ферроцианидной редокс-системы. Из рисунка 1 видно, что циклические вольтамперограммы и спектры электрохимического импеданса имеют классический для редокс-пары ферроцианидов вид, причем существенные различия между

аналитическими сигналами на электродах, модифицированных различными композитами ПЭК хитозана, не наблюдались. Можно сделать вывод о том, что предложенные сенсоры могут использоваться для вольтамперометрических измерений.

Наименьшей эффективной площадью поверхности, рассчитанной по уравнению Рэндлса-Шевчика, обладает электрод, модифицированный только ПЭК хитозана, с введением циклодекстринов в ПЭК, площадь электродов возрастает, что согласуется с данными, полученными при регистрации описанных выше циклических вольтамперограмм.

Для изучения морфологии поверхности стеклоуглеродного электрода, модифицированного ПЭК и β -ЦД, были использованы методы АСМ и СЭМ. Сенсор на основе ПЭК имеет гладкую поверхность с редкими включениями (рис. 2 а), при введении α -, β -, γ -ЦД в ПЭК наблюдаются неровные участки с включениями зёрен ЦД диаметром от 10 до 40 нм (рис. 2 б, в), что подтверждает возможность использования последних в качестве хиральных селекторов для распознавания энантимеров Атн.

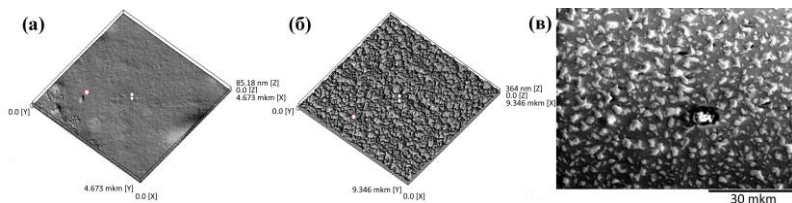


Рисунок 2 – АСМ снимки поверхности сенсоров СУЭ/ПЭК (а) и СУЭ/ПЭК- β -ЦД (б). СЭМ изображение поверхности СУЭ/ПЭК- β -ЦД (в)

Атенолол окисляется на фоне буферных растворов в диапазоне рН от 8 до 10 с переносом двух электронов (рис. 3).

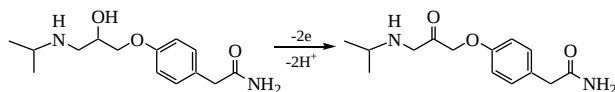


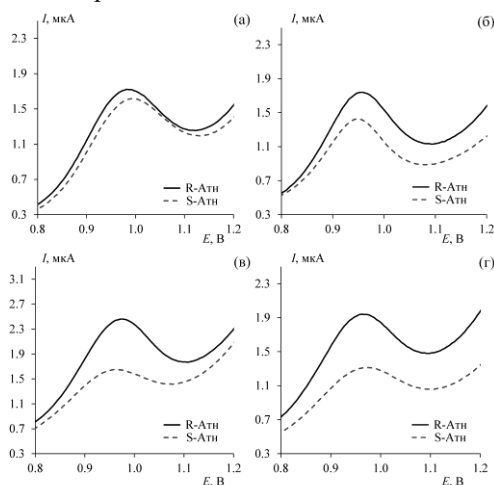
Рисунок 3 – Схема электрохимического окисления Атн

Влияние рН на электрохимическое окисление Атн на модифицированных ПЭК хитозана электродах исследовали в диапазоне от 6 до 11 с использованием универсального буферного раствора Бриттона-Робинсона. Максимальный ток пика Атн наблюдался при рН ~ 9, поэтому для проведения эксперимента был выбран боратный буферный раствор с рН 9.18.

Было изучено влияние скорости развертки потенциала в диапазоне от 20 до 200 мВ/с. С увеличением скорости развертки потенциала токи пиков

возрастают. Для установления природы наблюдаемых токов были исследованы зависимости $\lg i_p = \lg v + \text{const}$, где v – скорость изменения потенциала электрода. Величины тангенсов угла наклона указанных зависимостей были близки к 0.5 ($0.42 \div 0.50$, $R^2 = 0.98 \div 0.99$), т.е. лимитирующей стадией электродного процесса на модифицированных ПЭК хитозана электродах является диффузия электроактивного вещества к поверхности электрода.

Аналитические сигналы энантиомеров Атн на СУЭ/ПЭК незначительно отличаются друг от друга, тогда как с добавлением ЦД в модификатор эти различия более заметны (рис. 4). Это связано с тем, что ЦД могут образовывать комплексы с Атн и действуют как хиральные селекторы.



(б) Рисунок 4 – ДИВ 0.5 мМ растворов энантиомеров АТн на фоне боратного буферного раствора (рН 9.18) на электродах: СУЭ/ПЭК (а), СУЭ/ПЭК-α-ЦД (б), СУЭ/ПЭК-β-ЦД (в), СУЭ/ПЭК-γ-ЦД (д)

Зависимость тока пика от концентрации энантиомеров Атн линейна в диапазоне от 0.008 до 0.5 мМ. Чувствительность к R-Атн выше, чем к S-Атн, на всех электродах с пределом обнаружения 2.22 мкМ. (табл. 1).

Таблица 1 – Электроаналитические характеристики сенсоров для определения энантиомеров Атн (0.5 мМ) в условиях ДИВ

Электрод	E_p , В		i_p , мкА		$\Delta i_p / \Delta C$, мкА/мМ		$C_{\min}$, мкМ	
	R	S	R	S	R	S	R	S
СУЭ/ПЭК	0.97	0.98	0.67	0.60	1.15	1.03	3.57	3.98
СУЭ/ПЭК-α-ЦД	0.96	0.95	0.96	0.68	1.63	1.11	2.52	3.69
СУЭ/ПЭК-β-ЦД	0.98	0.96	1.14	0.72	1.85	1.18	2.22	3.47
СУЭ/ПЭК-γ-ЦД	0.97	0.96	0.81	0.58	1.40	0.99	2.93	4.14

При этом наибольшая разница в токах пиков окисления энантиомеров наблюдается на сенсоре СУЭ/ПЭК-β-ЦД ($i_{pR}/i_{pS} = 1.58$). Можно предположить, что это связано с соответствием размеров молекулы Атн

($4.32 \times 4.88 \times 14.83 \text{ \AA}$) диаметру полости β -ЦД, равному $6.0 - 6.5 \text{ \AA}$, тогда как диаметры полостей α - и γ -ЦД равны $4.7 - 5.3$ и $7.5 - 8.3$, соответственно.

Для оценки правильности работы сенсоров использовался метод введено-найдено для модельных растворов энантиомеров Атн с различной концентрацией. Сенсоры правильно определили концентрации модельных растворов Атн, при этом S_r не превышало 4.8% (табл. 2).

Вольтамперометрические сенсоры на основе ПЭК хитозана с ЦД были использованы также для анализа энантиомеров Атн в биологических жидкостях. При применении Атн для лечения его содержание в биологических жидкостях колеблется около $10 - 120 \text{ мкМ}$. Результаты количественного определения энантиомеров Атн в моче методом «введено-найдено» представлены в таблице 3, при этом относительное стандартное отклонение составило $1.3 \div 3.3 \%$.

Таблица 2 – Определение энантиомеров Атн на СУЭ, модифицированном ПЭК-ЦД в модельных растворах ($n = 5$; $P = 0.95$)

Электрод	Введено, мкМ		Найдено, мкМ		$S_r, \%$	
	R	S	R	S	R	S
СУЭ/ПЭК- α -ЦД	20	20	19.6 ± 1.8	19.4 ± 3.0	3.5	3.2
	100	100	101.5 ± 2.1	98.8 ± 2.8	3.1	2.8
СУЭ/ПЭК- β -ЦД	20	20	19.7 ± 1.4	20.5 ± 1.7	2.1	2.7
	100	100	99.3 ± 2.1	103.0 ± 3.2	1.9	2.2
СУЭ/ПЭК- γ -ЦД	20	20	20.8 ± 1.1	19.3 ± 2.3	3.6	3.1
	100	100	102.4 ± 3.3	99.2 ± 1.9	3.4	2.9

Таблица 3 – Определение энантиомеров Атн в моче человека на СУЭ/ПЭК- β -ЦД с помощью ДИВ ($n=5$; $P=0.95$)

Образец	Введено, мкМ		Найдено, мкМ		$S_r, \%$	
	R	S	R	S	R	S
Моча 1	10.0	10.0	9.9 ± 2.0	10.7 ± 2.3	2.0	3.3
Моча 2	15.0	15.0	14.7 ± 1.5	15.9 ± 1.1	2.5	1.2
Моча 3	20.0	20.0	21.0 ± 1.2	21.1 ± 1.6	1.3	2.9

С целью надежного распознавания энантиомеров Атн, вольтамперограммы преобразовывали с использованием МГК. Для увеличения вероятности распознавания энантиомеров Атн использовалась сенсорная система с тремя индикаторными электродами, модифицированными композитами ПЭК хитозана с α -, β - и γ -ЦД, с перекрестной чувствительностью к S- и R-Атн. В этом случае кластеры (данные параллельных измерений) энантиомеров не пересекаются друг с

другом на графиках счетов в координатах ГК1-ГК2, при этом наблюдается увеличение объясненной дисперсии до 65%, что приводит к увеличению чувствительности и специфичности сенсоров (рис. 5).

С помощью метода ПЛС-ДА были рассчитаны регрессионные отклики, значения которых рассчитываются на этапе идентификации тестовых образцов. Принадлежность тестовых образцов к соответствующим классам образцов сравнения определяется близостью регрессионных откликов к единице или 100 %. В качестве образцов сравнения и тестовых образцов использовали растворы энантиомеров Атн с концентрацией 50 мкМ, приготовленные независимо друг от друга. Итоговая матрица данных была размером 100×100 . В ПЛС-ДА предпочтительно использовать следующие показатели качества: чувствительность, специфичность и эффективность. Чувствительность класса отражает процент объектов, которые принадлежат данному классу и правильно распознаются моделью. Специфичность класса отражает процент объектов, которые не принадлежат к данному классу и правильно отклонены моделью. Среднее геометрическое значение чувствительности и специфичности – это эффективность. Качество классификации наивысшее в случае использования трехсенсорной системы, классовая эффективность составила для R-Атн 96.3 % и для S-Атн 97.5 % (табл. 4).

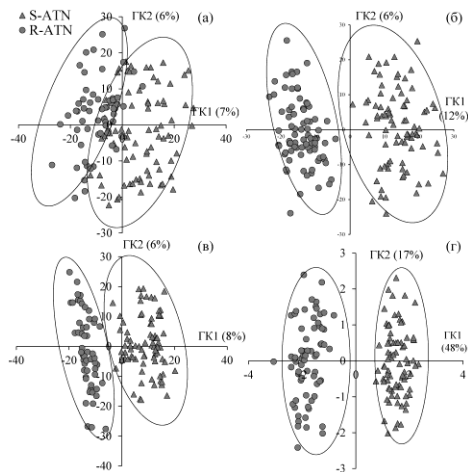


Рисунок 5 – Графики счетов МГК моделирования ДИВ 0.5 мМ растворов R- и S-Атн на: ПЭК-α-ЦД (а), ПЭК-β-ЦД (б), ПЭК-γ-ЦД (в), трехсенсорной системе (г)

Таким образом, в результате проведенных исследований разработаны сенсоры, основанные на композитах ПЭК хитозана с хорошо изученными в качестве хиральных селекторов циклодекстринами.

С применением хеометрических методов на основе таких сенсоров, предложена мультисенсорная система, успешно апробированная для определения и распознавания энантиомеров Атн, для которых в мировой научной литературе имеются лишь единичные исследования.

Таблица 4 – Дискриминационные отклики ПЛС-ДА-модели для R- и S-Атн на предложенных сенсорах

ТО** \ ОС*	СУЭ/ПЭК- α -ЦД		СУЭ/ПЭК- β -ЦД		СУЭ/ПЭК- γ -ЦД		Трехсенсорная система	
	R	S	R	S	R	S	R	S
R	83.6	16.5	94.5	6.8	89.8	11.2	97.1	3.6
S	14.1	87.7	9.7	92.1	13.9	91.2	4.4	98.7

ОС* - образцы сравнения, ТО** - тестовые образцы.

Раздел 3.2 посвящен разработке сенсора на основе СУЭ, модифицированного композитом ПЭК хитозана с новым хиральным селектором – нанокластерами 3,4,9,10-перилентетракарбоновой кислоты, осажденными на поверхности графитированной термической сажи (ГС). Оценка энантиоселективных и аналитических возможностей сенсора выполнена на примере энантиомеров хорошо известной аминокислоты – тирозина.

Выбор оптимального состава композита заключался в изучении зависимости относительного стандартного отклонения токов пиков редокс-пары $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ и энантиоселективности сенсора к энантиомерам Тир от соотношения (масс.) ПЭК:ГС-ПТКК (1:0.001, 1:0.005, 1:0.01, 1:0.05, 1:0.1). Оптимальным соотношением ПЭК:ГС-ПТКК было выбрано 1:0.01.

Характеристики модифицированных электродов были изучены методами ЦВ и ЭИС. При введении ГС и ГС/ПТКК в ПЭК наблюдалось увеличение токов катодного и анодного пиков ферроцианидов (рис. 6 а) и уменьшение сопротивления переноса заряда (рис. 6 б). Для СУЭ, модифицированного только ПЭК хитозана площадь эффективной поверхности составила 2.22 мм², добавление ГС и ГС/ПТКК приводит к ее увеличению до 3.75 и 4.26 мм², соответственно.

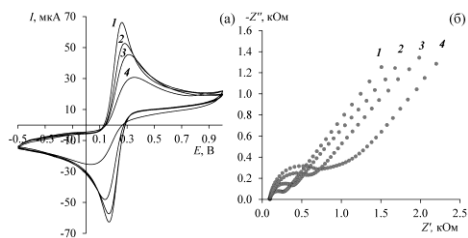


Рисунок 6 – (а) ЦВ и (б) Диаграммы Найквиста 5.0 мМ раствора $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (1:1) на фоне 0.1 М КСl на различных электродах:

- 1 – СУЭ;
- 2 – СУЭ/ПЭК-ГС-ПТКК;
- 3 – СУЭ/ПЭК-ГС;
- 4 – СУЭ/ПЭК

При изучении морфологии поверхности модифицированных СУЭ с помощью АСМ можно видеть, что поверхность электрода, модифицированного ПЭК, гладкая с редкими включениями в полимерной пленке (рис.7 а). При нанесении на поверхность СУЭ композита ПЭК-ГС-

ПТКК наблюдается неровная зернистая поверхность с диаметром отдельных зерен порядка 300-400 нм и высотой около 100-150 нм (рис.7 б).

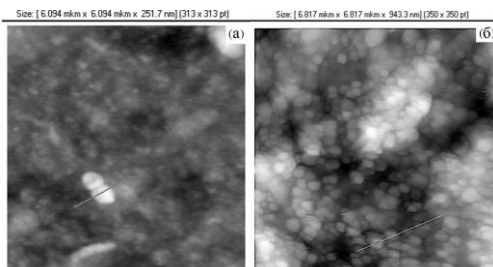


Рисунок 7 – АСМ-изображения поверхности СУЭ, модифицированной ПЭК (а) и ПЭК-ГС-ПТКК (б).

Природу регистрируемых токов устанавливали из зависимости $\lg i_p$ от $\lg v$, где v – скорость развертки потенциала электрода в диапазоне от 10 до 200 мВ/с. Из величины тангенса угла наклона полученной зависимости (критерий Семерано), равного 0.496, было установлено, что электродный процесс на поверхности СУЭ/ПЭК-ГС-ПТКК контролируется диффузией электроактивного вещества.

Известно, что Тир окисляется (рис. 8) на стеклоуглеродном электроде в диапазоне от 0.5 до 1.0 В, в основном в кислой и нейтральной средах.

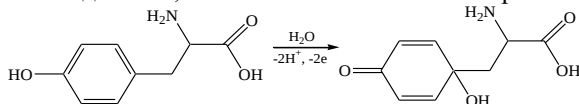


Рисунок 8 – Электрохимическая реакция окисления тирозина

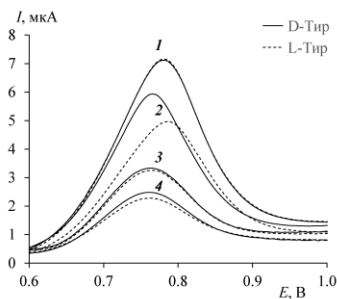


Рисунок 9 – ДИВ 0.6 мМ растворов энантиомеров тирозина в фосфатном буферном растворе (рН 6.86) на:

- 1 – СУЭ,
- 2 – СУЭ/ПЭК-ГС- ПТКК,
- 3 – СУЭ/ПЭК-ГС,
- 4 – СУЭ/ПЭК.

В ходе экспериментов при использовании кислой среды подложка ПЭК хитозана растворялась, а в нейтральной среде она была устойчива, поэтому измерения проводили в фосфатном буферном растворе с рН 6.86, который соответствует максимальному току окисления тирозина. Методом ДИВ была изучена способность сенсора к распознаванию и определению энантиомеров тирозина. На рисунке 9 представлены вольтамперограммы окисления энантиомеров Тир на электродах с различным составом компонентов модификатора. При нанесении только ПЭК наблюдается небольшое различие в высоте пиков окисления энантиомеров Тир, что

свидетельствует о том, что ПЭК хитозана за счет изначальной хиральности проявляет небольшую энантиоселективность по отношению к энантиомерам Тир. При введении в ПЭК хитозана немодифицированной графитированной сажи высота токов пиков окисления энантиомеров Тир возрастает, вероятно за счет увеличения активной площади поверхности электрода, как и в случае с $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$.

Включение в ПЭК хитозана графитированной термической сажи, модифицированной ПТКК, существенно влияет на вольтамперограммы, как на высоту пиков, так и на потенциалы окисления Тир (табл. 5). При этом чувствительность сенсора для D-Тир выше, чем для L-Тир. Предел обнаружения рассчитывали по 3σ -критерию.

При увеличении концентрации L- и D-Тир наблюдается линейное увеличение высоты тока пиков окисления энантиомеров в диапазоне от 6.25 до 1000 мкМ. Из литературы известно, что образование двумерных пространственных групп на поверхности нанокластеров ПТКК при самосборке обеспечивает их хиральность. Различия в высоте токов пиков и потенциалах окисления энантиомеров Тир указывают на то, что свободные энергии взаимодействия нанокластеров ПТКК с D- и L-энантиомерами Тир отличаются друг от друга. Исходя из полученных результатов, можно предположить, что D-Тир связывается с нанокластерами ПТКК слабее и тем самым быстрее проникает через их слой к поверхности электрода, вследствие чего для D-Тир наблюдаются более высокие токи окисления, а потенциал окисления смещается в сторону катодных потенциалов относительно L-Тир.

Таблица 5 – Электроаналитические характеристики сенсоров для определения энантиомеров Тир (0.6 мМ) в условиях ДИБ

Электрод	E_p , В		i_p , мкА		$\Delta i_p/\Delta c$, мкА/мМ		C_{min} , мкМ	
	L	D	L	D	L	D	L	D
СУЭ	0.77	0.77	6.11	6.12	8.37	8.38	1.60	1.60
СУЭ/ПЭК	0.76	0.76	1.65	1.91	2.26	2.61	5.93	5.14
СУЭ/ПЭК-ГС	0.76	0.76	2.52	2.72	3.45	3.72	3.89	3.61
СУЭ/ПЭК-ГС-ПТКК	0.79	0.76	3.95	4.91	5.59	6.73	2.39	2.03

L-Тир является жизненно важным компонентом белков и обеспечивает положительный азотный баланс, поэтому обязательно должен быть в пищевом рационе человека. Нормальные концентрации L-Тир в плазме крови колеблются от 50 до 300 мкМ. Аномальный уровень L-Тир в организме человека приводит к различным заболеваниям. Следовательно, определение содержания L-Тир в биологических жидкостях имеет большое значение.

Точность определения энантиомеров Тир рассчитывали с помощью метода «введено-найдено» в модельных растворах L- и D-Тир и растворах энантиомеров Тир в моче и плазме крови человека. Выбранные для анализа концентрации энантиомеров Тир соответствовали их реальному содержанию в биологических жидкостях. Полученные данные (табл. 6) показывают, что сенсор позволил правильно определить содержание Тир в модельных растворах в широком диапазоне концентраций. Относительное стандартное отклонение во всех случаях не превышало 7.3%. Менее стабильные показатели в плазме крови, по-видимому, связаны с ее более сложным составом по сравнению с мочой.

Предложенный вольтамперометрический сенсор позволяет также определять энантиомеры Тир в их смеси. ДИВ 0.6 мМ растворов Тир с различным содержанием L-энантиомера (0, 20, 40, 60, 80, 100 мас. %) (рис.10 а) показывают, что с увеличением содержания L-Тир и, соответственно, с уменьшением содержания D-Тир ток пика окисления уменьшается, а потенциал пика смещается в сторону более положительных значений. На рисунке 10 б приведены соответствующие линейные зависимости. Это свидетельствует о возможности применения предложенного сенсора для определения содержания энантиомеров в их смеси. Однако погрешность таких измерений достаточно велика из-за малых различий между токами и потенциалами пиков окисления D- и L-Тир. Следует заметить, что аналогичная проблема наблюдается для многих ЭВС, описанных в литературе. Большинство из них, как правило, характеризуются небольшими различиями потенциалов пиков окисления/восстановления энантиомеров. Эта проблема была решена с помощью хеометрических способов обработки данных.

Таблица 6 – Результаты вольтамперометрического определения энантиомеров Тир на СУЭ, модифицированном ПЭК-ГС-ПТКК, в модельных растворах и растворах мочи и плазмы крови (n = 5; P = 0.95)

Образец	Введено, мкМ		Найдено, мкМ		S _r , %	
	D	L	D	L	D	L
Чистые растворы	700	700	691±15	690±20	1.8	2.3
	300	300	291±11	289±14	3.1	3.9
	100	100	96±8	95±7	5.4	5.1
Моча	700	700	688±22	690±30	2.6	3.2
	300	300	290±21	294±15	4.5	4.1
	100	100	96±8	95±8	7.1	6.7
Плазма крови	700	700	679±28	682±40	3.3	4.2
	300	300	289±14	286±20	5.0	5.5
	100	100	93±7	93±8	5.9	7.3

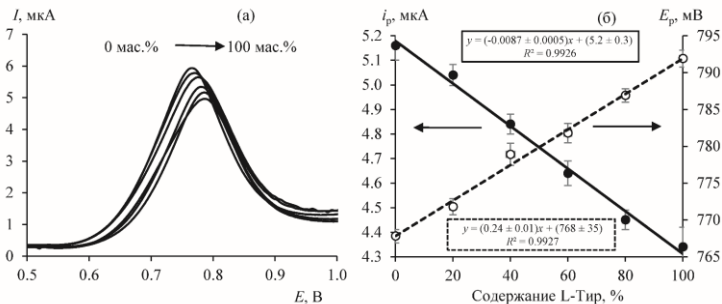


Рисунок 10 – (а): ДИВ 0.6 мМ смесей энантиомеров Тир с разным содержанием L-Тир на СУЭ/ПЭК-ГС- ПТКК. (б): Зависимость потенциала и тока пика от содержания L-Тир в 0.6 мМ растворе смеси энантиомеров

Хеометрическая обработка данных предполагает их многомерный анализ. Целью любого многомерного анализа является декомпозиция (разложение) данных, позволяющая выявить и промоделировать их «скрытые особенности». Обработку данных проводили методом проекции на латентные структуры. Для построения ПЛС-модели (т.е. для обучения системы) необходим массив, состоящий из двух частей X и Y , где в качестве массива X были выбраны вольтамперограммы смесей энантиомеров Тир с разным соотношением L- и D-Тир, а в качестве массива Y выступал ряд переменных с соответствующими значениями соотношений L- и D-Тир от 0 до 1. Размерность матриц для X составила 42×100 (7 параллельных вольтамперограмм для 6 растворов смесей с различным соотношением по 100 значений токов для каждой вольтамперограммы) и Y – 42×1 (вольтамперограммы с соответствующими соотношениями L- и D-Тир в смеси). Массивы данных были получены для растворов с известными соотношениями энантиомеров Тир и являются калибровочными для построения ПЛС-модели.

Из рисунка 11а видно, что на графике счетов ПЛС-модели точки, соответствующие вольтамперограммам растворов смесей с различным соотношением L- и D-энантиомеров Тир, образуют кластеры и располагаются в порядке изменения соотношения L- и D-Тир по ГК1. Из значения объясненной дисперсии видно, что ГК1 описывает большую часть данных. 78% изменений в массиве X объясняет 97% изменений в массиве Y , так как массив Y состоит из переменных, представляющих собой соотношение энантиомеров в смеси, то можно сделать вывод, что ГК1 моделирует именно эту зависимость и 78% всех вольтамперограмм (массив X) объясняют данную зависимость, а оставшиеся 22% данных массива X не имеют отношения к ГК1. Таким образом, метод ПЛС

позволяет извлечь только нужную информацию и отсеять ненужную, в том числе шумовую составляющую эксперимента.

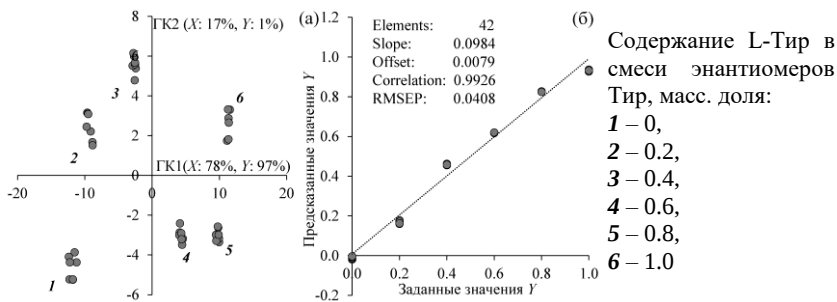


Рисунок 11 – (а) График счетов ПЛС-моделирования вольтамперограмм растворов смесей с различным соотношением L- и D-Тир на СУЭ/ПЭК-ГС-ПТКК; (б) график «введено-найдено» для ПЛС-модели по определению соотношения энантиомеров Тир в смеси

Для оценки способности прогнозирования и подтверждения работоспособности полученной модели была проведена перекрестная проверка (cross-validation), при которой используются образцы только из имеющегося калибровочного набора. Часть этих образцов служила для построения модели, а другая часть – для ее проверки. Результатом проверки является сравнение предсказанных и калибровочных значений Y , представленное в виде графика «введено-найдено» (рис.11 б). Полученную модель можно считать адекватной и пригодной для прогнозирования.

Вторым этапом обработки экспериментальных данных было прогнозирование с помощью полученной ПЛС-модели состава тестовых образцов. В данном случае тестовыми образцами служили растворы смесей энантиомеров Тир, приготовленные независимо от калибровочного набора. Размерность матрицы тестовых образцов составила 27 x 100 (3 параллельные вольтамперограммы для 9 растворов смесей с различным соотношением по 100 значений тока для каждой вольтамперограммы).

Результаты, представленные в таблице 7 показывают, что во всех случаях соотношение энантиомеров Тир в смеси определено правильно, относительная погрешность измерений не превышала 8 %.

Таким образом, в результате проведенных исследований разработан достаточно простой в изготовлении новый вольтамперометрический сенсор на основе полиэлектролитного комплекса хитозана и хиральных нанокластеров 3,4,9,10-перилентетракарбоновой кислоты, определены его электроаналитические характеристики. Показана возможность определения энантиомеров Тир в моче и плазме крови человека. С

помощью регрессионного анализа количественно определено содержание энантимеров Тир в смеси.

Таблица 7 – Результаты прогнозирования содержания L-Тир (масс. доля) в смеси энантимеров Тир с помощью ПЛС-модели

Заданное содержание L-Тир, масс. доли	Прогнозируемое содержание L-Тир, масс. доли	Относительная погрешность, %
0	0.006 ± 0.019	0.6
	0.013 ± 0.018	1.3
	0.037 ± 0.036	3.7
0.2	0.184 ± 0.016	7.0
	0.181 ± 0.032	5.5
	0.196 ± 0.024	2.0
0.3	0.276 ± 0.025	8.0
	0.288 ± 0.025	4.0
	0.294 ± 0.026	2.0
0.4	0.423 ± 0.027	5.7
	0.415 ± 0.026	3.7
	0.414 ± 0.027	3.5
0.5	0.528 ± 0.026	5.6
	0.527 ± 0.027	5.4
	0.528 ± 0.026	5.6
0.6	0.618 ± 0.051	3.0
	0.617 ± 0.064	2.8
	0.617 ± 0.053	2.8
0.7	0.686 ± 0.038	2.0
	0.686 ± 0.037	2.0
	0.686 ± 0.039	2.0
0.8	0.823 ± 0.021	2.9
	0.823 ± 0.022	2.9
	0.821 ± 0.022	2.6
1.0	0.938 ± 0.061	6.2
	0.971 ± 0.064	2.9
	0.949 ± 0.061	5.1

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработаны вольтамперометрические энантиоселективные сенсоры на основе композитов полиэлектrolитного комплекса хитозана с α -, β -, γ -ЦД и ПТКК для распознавания и определения энантимеров атенолола и тирозина. Установлен оптимальный состав композитов: содержание α -, β -,

γ -ЦД в объеме полимера – 5 г/л, соотношение (масс.) ПЭК:ГС-ПТКК – 1:0.01. Оптимальный объем наносимого на поверхность СУЭ композита составил 10 мкл.

Методами ЦВ и СЭИ изучены электрохимические характеристики сенсоров и рассчитаны эффективные площади их поверхности. Методами АСМ и СЭМ изучена морфология поверхности разработанных сенсоров. Показано, что при введении циклодекстринов в пленку полиэлектролитного комплекса хитозана на АСМ и СЭМ изображениях наблюдаются включения наносферических зерен циклодекстринов с диаметром от 10 до 40 нм. При нанесении на поверхность СУЭ композита ПЭК-ГС-ПТКК наблюдается неровная зернистая поверхность с равномерно распределенными зернами ПТКК диаметром 300-400 нм и высотой 100-150 нм.

Установлены оптимальные условия электрохимического окисления энантиомеров атенолола и тирозина на предложенных сенсорах: pH 9.18 и 6.86, соответственно, скорость развертки 0.02 В/с. Показано, что лимитирующей стадией электродного процесса является скорость диффузии энантиомеров атенолола и тирозина к поверхности электрода.

Показана возможность распознавания энантиомеров атенолола с использованием предложенных вольтамперометрических энантиоселективных сенсоров на основе композитов полиэлектролитного комплекса хитозана с α -, β -, γ -ЦД и сенсорной системы, сформированной из них. Установлено, что наибольшую энантиоселективность имеет сенсор на основе β -ЦД. Получены линейные зависимости аналитического сигнала от концентрации энантиомеров атенолола в растворе в диапазоне от 0.008 до 0.5 мМ с пределами обнаружения 2.03 мкМ и 2.98 мкМ. Использование вольтамперометрической сенсорной системы позволяет повысить количество правильно распознанных образцов атенолола.

Показано, что вольтамперометрический энантиоселективный сенсор на основе СУЭ, модифицированного композитом полиэлектролитного комплекса хитозана с нанокластерами ПТКК позволяет распознать и определить энантиомеры тирозина в линейном диапазоне концентраций от 6.25 до 1000 мкМ, с чувствительностью к L- и D-энантиомерам 5.59 мкА/мМ и 6.73 мкА/мМ и пределами обнаружения 2.39 мкМ и 2.03 мкМ, соответственно. Относительное стандартное отклонение не превышало 5.4 %.

Продemonстрировано, что предложенные сенсоры позволяют определять энантиомеры атенолола и тирозина в биологических жидкостях с относительными стандартными отклонениями, не превышающими 3.3 % и 7.3 %, соответственно.

Показано, что сенсор на основе композитов полиэлектролитного комплекса хитозана с нанокластерами ПТКК позволяет с высокой

вероятностью определить соотношение энантиомеров тирозина в их смеси, что подразумевает возможность практического применения разработанной сенсорной платформы для хирального распознавания энантиомеров лекарственных препаратов и биологически активных веществ.

Перспективы дальнейшей разработки темы исследований заключаются в расширении круга лекарственных средств и биологически активных добавок, а также разработке новых хиральных материалов на основе композитов хитозана для создания энантиоселективных вольтамперометрических сенсоров. Кроме того, планируется проведение исследований по апробации предложенных сенсоров в реальных условиях с целью оценки правильности определения энантиомеров атенолола и тирозина в смесях их энантиомеров в биологических жидкостях (кровь, моча).

Полученные результаты можно использовать в качестве основы для создания вольтамперометрических экспресс-анализаторов для быстрого и точного определения энантиомеров биологически активных и лекарственных соединений.

ОСНОВНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах и изданиях, определенных ВАК и Аттестационным советом УрФУ:

1. Zilberg, R.A. Selective voltammetric sensors based on composites of chitosan polyelectrolyte complexes with cyclodextrins for recognition and determination of atenolol enantiomers / R.A. Zilberg, V.N. Maistrenko, L.R. Kabirova, **D.I. Dubrovsky** // *Analytical Methods*. – 2018. – V. 10. – N. 16. – P. 1886-1894. (0.6512 п. л. / 0.1628 п. л.) (Scopus, WOS)

2. **Дубровский, Д.И.** Вольтамперометрические сенсоры на основе композитов полиэлектrolитного комплекса хитозана и α -, β -, γ -циклодекстринов для определения и распознавания энантиомеров метионина / **Д.И. Дубровский**, Л.Р. Кабирова, А.И. Хаблетдинова, Р.А. Зильберг, В.Н. Майстренко // *Вестник Башкирского университета*. – 2018. – Т. 23. – № 3. – С. 721-727. (0.5590 п. л. / 0.1118 п. л.)

3. Яркаяева, Ю.А. Вольтамперометрический сенсор на основе композита 3,4,9,10-перилентетракарбоновой кислоты для распознавания и определения энантиомеров тирозина / Ю. А. Яркаяева, **Д.И. Дубровский**, Р.А. Зильберг, В.Н. Майстренко, В.М. Корнилов // *Журнал аналитической химии*. – 2020. – Т. 75. – №. 12. – С. 1108-1118. (0.9918 п. л. / 0.1983 п. л.)

Yarkaeva, Ya.A. A voltammetric sensor based on a 3,4,9,10-perylenetetra-carboxylic acid composite for the recognition and determination of tyrosine enantiomers / Yu.A. yarkaevaa, **D.I. Dubrovskii**, R.A. Zil,berg, V.N.

Maistrenko, V.M. Kornilov // Journal of Analytical chemistry. – 2020. – V. 75. N. 12. – P. 1537-1545. (0.8602 п. л./0.1720 п. л.) (Scopus, WOS)

Другие публикации:

4. Кабирова, Л.Р. Оптимизация условий регистрации вольтамперограмм окисления атенолола на электродах, модифицированных композитами полиэлектrolитных комплексов хитозана с производными циклодекстринов / Л.Р. Кабирова, **Д.И. Дубровский**, А.И. Хаблетдинова, Р.А. Зильберг, В.Н. Майстренко // Доклады Башкирского университета. – 2018. – Т. 3. – № 3. – С. 269. (0.2779 п. л. / 0.0555 п. л.)

5. Майстренко, В.Н. Электронный язык на основе композитных электродов в условиях потенциодинамической импедансной спектроскопии / В.Н. Майстренко, А.В. Сидельников, **Д.И. Дубровский**, Э.И. Максютова // Сборник тезисов докладов III Съезда Аналитиков России. – Москва, 2017. – С. 68. (0.0616 п. л. / 0.0154 п. л.)

6. Kabirova, L.R. Projection to latent structures for recognition of atenolol by manufacturers / L.R. Kabirova, Yu.R. Provorova, **D.I. Dubrovsky**, A.I. Habletdinova, L.R. Ganieva // Book of abstracts of the I International scientific conference for students and young scientists «Current chemical problems (CCP-2018)». – Ukraine, 2018. – С. 22. (0.0669 п. л. / 0.0133 п. л.)

7. **Дубровский, Д.И.** Селективное концентрирование энантиомеров атенолола при их определении и распознавании на модифицированном хитозаном стеклоуглеродном электроде / **Д.И. Дубровский**, Р.А. Зильберг, Л.Р. Кабирова, В.Н. Майстренко // Сборник тезисов V Всероссийский симпозиум «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии». – Краснодар, 2018. – С. 26. (0.0585 п. л. / 0.0146 п. л.)

8. Ганиева, Л.Р. Вольтамперометрическое распознавание энантиомеров атенолола в биологических жидкостях / Л.Р. Ганиева, Л.Р. Кабирова, **Д.И. Дубровский**, Р.А. Зильберг // Сборник тезисов X Международной школы-конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Фундаментальная математика и ее приложения в естествознании». – Уфа, 2018. – С. 312. (0.0642 п. л. / 0.0160 п. л.)

9. Зильберг, Р.А. Распознавание и определение энантиомеров атенолола с помощью вольтамперометрических сенсоров на основе композитных полиэлектrolитных комплексов хитозана и циклодекстринов / Р.А. Зильберг, Л.Р. Кабирова, **Д.И. Дубровский**, Ю.Р. Проворова, В.Н. Майстренко // Сборник тезисов докладов четвертого междисциплинарного симпозиума по медицинской, органической и биологической химии и фармацевтике. – Новый Свет (Крым), 2018. – С. 141. (0.0920 п. л. / 0.0184 п. л.)

10. **Дубровский, Д.И.** Вольтамперометрическое определение и распознавание энантиомеров тирозина с помощью хирального сенсора / **Д.И. Дубровский**, Р.А. Зильберг, Л.Р. Кабирова, Н.А. Никонова // Сборник тезисов докладов III Всероссийской молодежной конференции «Проблемы и достижения химии кислород- и азотсодержащих биологически активных соединений». – Уфа, 2018. – С. 122. (0.0447 п. л. / 0.0111 п. л.)

11. **Дубровский, Д.И.** Хиральное определение и распознавание тирозина с помощью вольтамперометрических сенсоров / **Д.И. Дубровский**, Р.А. Зильберг, Л.Р. Кабирова, Н.А. Никонова // Сборник трудов Всероссийской научной конференции «Актуальные проблемы науки о полимерах - 2018», посвященной 60-летию юбилею кафедры Технологии пластических масс. – Казань, 2018. – С. D-5-17. (0.0654 п. л. / 0.0163 п. л.)

12. **Дубровский, Д.И.** Определение и распознавание тирозина с помощью вольтамперометрических хиральных сенсоров / **Д.И. Дубровский**, Р.А. Зильберг, Л.Р. Кабирова, Н.А. Никонова, Ю.К. Косихина // Сборник материалов Всероссийской заочной научно-практической конференции «Современные информационные технологии в образовании и научных исследованиях: ИНФОТЕХ - 2018». – Уфа, 2018. – С. 135. (0.0492 п.л. / 0.0098 п. л.)

13. **Dubrovsky, D.I.** Chiral recognition and determination of tyrosine enantiomers using voltammetric sensors / **D.I. Dubrovsky**, R.A. Zilberg, N.A. Nikonova, K.A. Galieva, Y.K. Kosihina // International scientific and technical conference of young scientists «Innovation materials and technologies». – Minsk, 2019. – P. 146. (0.0654 п. л. / 0.0130 п. л.)