

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G01N 27/308 (2025.01); G01N 27/48 (2025.01)

(21)(22) Заявка: 2024139268, 24.12.2024

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
24.12.2024Дата регистрации:
01.04.2025

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 24.12.2024

(45) Опубликовано: 01.04.2025 Бюл. № 10

Адрес для переписки:

450008, Респ. Башкортостан, г. Уфа, ул.
К.Маркса, 12, УУНиТ, центр трансфера
технологий, Ефремовой В.П.

(72) Автор(ы):

Зильберг Руфина Алексеевна (RU),
Булышева Елена Олеговна (RU),
Терес Юлия Борисовна (RU),
Вакулин Иван Валентинович (RU),
Мухаметдинов Чингизхан Рауфович (RU),
Ишмакаева Гульназ Ильгизовна (RU),
Ларионов Владимир Анатольевич (RU),
Малеев Виктор Иванович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Уфимский университет науки
и технологий" (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2807488 C1, 15.11.2023. RU
2814614 C1, 01.03.2024. CN 107576714 B,
04.06.2019. CN 107589160 B, 18.06.2019.(54) ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ СЕНСОР ДЛЯ ЭНАНТИОМЕРОВ НАПРОКСЕНА НА
ОСНОВЕ ПАСТОВОГО ЭЛЕКТРОДА, МОДИФИЦИРОВАННОГО ХИРАЛЬНЫМ КОМПЛЕКСОМ
НИКЕЛЯ (II)

(57) Реферат:

Изобретение относится к области электроаналитической химии. Энантиоселективный вольтамперометрический сенсор согласно изобретению выполнен на основе пастового электрода из графитированной термической сажи Carboblack C, предварительно модифицированной хиральным комплексом никеля(II) с хлорид-анионом на основе (S)-(2-аминометил)пирролидина и 3,5-дитретбутилсалицилового альдегида (S)-Ni^{II}-Cl,

взятым в соотношении 1 массовая часть комплекса на 100 массовых частей Carboblack C. Изобретение обеспечивает возможность определения содержания отдельных энантиомеров оптически активного действующего вещества фармацевтических препаратов «Напроксен» в модельных растворах, биологических жидкостях и таблетированных формах без предварительного выделения действующего вещества с использованием вольтамперометрического метода. 5 табл.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11)**2 837 532**⁽¹³⁾ **C1**

(51) Int. Cl.
G01N 27/30 (2006.01)
G01N 27/48 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
G01N 27/308 (2025.01); *G01N 27/48* (2025.01)

(21)(22) Application: **2024139268, 24.12.2024**(24) Effective date for property rights:
24.12.2024Registration date:
01.04.2025

Priority:

(22) Date of filing: **24.12.2024**(45) Date of publication: **01.04.2025** Bull. № 10Mail address:
**450008, Resp. Bashkortostan, g. Ufa, ul. K.Marksa,
12, UUNiT, tsentr transfera tekhnologij,
Efremovoj V.P.**

(72) Inventor(s):

**Zilberg Rufina Alekseevna (RU),
Bulysheva Elena Olegovna (RU),
Teres Iuliia Borisovna (RU),
Vakulin Ivan Valentinovich (RU),
Mukhametdinov Chingizkhan Raufovich (RU),
Ishmakaeva Gulnaz Ilgizovna (RU),
Larionov Vladimir Anatolevich (RU),
Maleev Viktor Ivanovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe biudzhethnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniia "Ufimskii universitet nauki i
tekhnologii" (RU)**

(54) VOLTAMMETRIC SENSOR FOR NAPROXEN ENANTIOMERS BASED ON PASTE ELECTRODE MODIFIED WITH CHIRAL NICKEL (II) COMPLEX

(57) Abstract:

FIELD: electroanalytical chemistry.

SUBSTANCE: enantioselective voltammetric sensor according to invention is based on paste electrode from graphitized thermal soot Carbolblack C, preliminarily modified by a chiral complex of nickel (II) with a chloride anion based on (*S*)-(2-aminomethyl)pyrrolidine and 3,5-di-tertbutylsalicylic aldehyde (*S*)-Ni^{II}-Cl, taken at ratio of 1 weight part of complex per 100 weight parts

of Carbolblack C.

EFFECT: invention enables to determine content of separate enantiomers of optically active substance of pharmaceutical preparations "Naproxen" in model solutions, biological fluids and tableted forms without preliminary isolation of active substance using voltammetric method.

1 cl, 5 tbl

C 1
2 837 532
R U

R U
2 837 532
C 1

Изобретение относится к области электроаналитической химии, а именно совершенствованию количественного определения энантиомеров напроксена (Nар), действующего вещества широкой группы противовоспалительных препаратов, в модельных растворах, биологических жидкостях, а также фармацевтических препаратах без их предварительного выделения из таблетированных (лекарственных) форм.

Энантиомерная чистота Nар является важным показателем качества нестероидных противовоспалительных препаратов «Напроксен», поскольку из его двух существующих оптических *S*- и *R*-форм, только *S*-изомер обладает терапевтическим эффектом, в то время как *R*-изомер проявляет фармацевтическую активность в 28 раз слабее и негативно влияет на функцию и анатомическое строение тканей печени. Препараты, содержащие Nар, широко используются в качестве противовоспалительного, анальгезирующего, жаропонижающего средства и выпускаются большим количеством производителей, поэтому экспрессный, высокоэффективный и недорогой контроль качества, способный определять энантиомерную чистоту содержащегося Nар, отслеживать особенности метаболизма действующего вещества у индивидуальных пациентов при стационарном и амбулаторном лечении является востребованным. Требования, предъявляемые к данному анализу, выполняются посредством использования электроаналитических методов с применением энантиоселективных вольтамперометрических сенсоров, отвечающих за качество определения энантиомерной чистоты Nар.

1. Известны сенсоры для распознавания и определения энантиомеров Nар на основе следующих модификаторов:

- GCE/rGO-TsPro-Cs [L.R. Zagitova, Y.A. Yarkaeva, V.V. Zagitov, M.I. Nazyrov, S. Gainanova, V.N. Maistrenko, Voltammetric chiral recognition of naproxen enantiomers by N-tosylproline functionalized chitosan and reduced graphene oxide based sensor // J. Electroanal. Chem., 2022, vol. 922, № 413, pp. 116744],

- CNF/Au/PANI/CPE [M. Afzali, Z. Jahromi, R. Nekooie, Sensitive voltammetric method for the determination of naproxen at the surface of carbon nanofiber/gold/polyaniline nanocomposite modified carbon ionic liquid electrode // Microchem. J., 2018].

Срок хранения вышеперечисленных сенсоров представлен в таблице 1.

Таблица 1

Сенсор	Срок хранения, дни
GCE/rGO-TsPro-Cs	7
CNF/Au/PANI/CPE	10

Описанные сенсоры обладают низкой стабильностью.

2. Известны сенсоры для распознавания и определения энантиомеров Nар на основе следующих хиральных модификаторов:

- L-CYS/AuNPs/Au [A. Afkhami, F. Kafrashi, M. Ahmadi, T. Madrakian, A new chiral electrochemical sensor for the enantioselective recognition of naproxen enantiomers using l-cysteine self-assembled over gold nanoparticles on a gold electrode // RSC Adv., 2015., vol. 5, № 72, pp. 58609],

- GCE/L-Cys/RGO [M. Jafari, J. Tashkhourian, G. Absalan, Electrochemical chiral recognition of naproxen using L-cysteine/reduced graphene oxide modified glassy carbon electrode // Anal. Bioanal. Chem. Res., 2020, vol. 7, № 1, pp. 1],

- GCE/TBO@rGO [L. Guo, Y. Huang, Q. Zhang, C. Chen, D. Guo, Y. Chen, Y. Fu, Electrochemical sensing for naproxen enantiomers using biofunctionalized reduced graphene oxide nanosheets // J. Electrochem. Soc., 2014, vol. 161, № 4, pp. B70],

- GCE/rGO-TsPro-Cs [L. R. Zagitova, Y. A. Yarkaeva, V. V. Zagitov, M. I. Nazyrov, S.

Gainanova, V. N. Maistrenko, Voltammetric chiral recognition of naproxen enantiomers by N-tosylproline functionalized chitosan and reduced graphene oxide based sensor // J. Electroanal. Chem., 2022, vol. 922, № 413, pp. 116744],

- CYЭ/β-CD/EG [S. Ebrahimi, A. Afkhami, T. Madrakian, Target -responsive host-guest binding driven dual-sensing readout for enhanced electrochemical chiral analysis // The Analyst., 2021, vol. 146, № 15, pp. 4865],

- GCE/PEC-[Cu(S-Ala)₂]-[Cu(S-Phe)₂], GCE/PEC-[Zn(S-Ala)₂ (H₂O)]-[Zn(S-Phe)₂ (H₂O)] [R. A. Zilberg, T. V. Berestova, R. R. Gizatov, Y. B. Teres, M. N. Galimov, E. O. Bulysheva, Chiral selectors in voltammetric sensors based on mixed phenylalanine/alanine Cu(II) and Zn(II) complexes // Inorganics, 2022, vol. 10, № 117],

- GCE/PEC-BA/AEL [R. A. Zilberga, V. N. Maistrenko, Yu. B. Teres, I. V. Vakulin, E. O. Bulysheva, A. A. Seluyanova, A voltammetric sensor based on aluminophosphate zeolite and a composite of betulinic acid with a chitosan polyelectrolyte complex for the identification and determination of naproxen enantiomers // J. Anal. Chem., 2023, vol. 78, No. 7, pp. 933-944].

Сравнение аналитических характеристик приведено в таблице 2.

Таблица 2

Сенсор	Предел обнаружения, мкмоль	Линейный диапазон определяемых концентраций, мкмоль	i_{p1}/i_{p2}	ΔE_p , мВ
L-CYS/AuNPs/Au	0.67	2 - 20	5.4	110
GCE/L-Cys/RGO	0.35 для S-Nap 2.5 для R-Nap	5.0 - 130	3.4	220
GCE/TBO@rGO	0.33	500 - 1300	2.29	-
GCE/rGO-TsPro-Cs	0.41	20 - 500	1.4	40
CYЭ/β-CD/EG	0.07	0.4 - 6	2.26	-
GCE/PEC-[Cu(S-Ala) ₂]-[Cu(S-Phe) ₂]	0.30 для S-Nap 0.38 для R-Nap	25 - 1000	1.27	30
GCE/PEC-[Zn(S-Ala) ₂ (H ₂ O)]-[Zn(S-Phe) ₂ (H ₂ O)]	0.38 для S-Nap 0.42 для R-Nap	25 - 1000	1.12	20
GCE/PEC-BA/AEL	0.107 для R-Nap 0.147 для S-Nap	25 - 1000	1.40	60

Данные сенсоры имеют энантиодифференцированный аналитический сигнал только по первому пику электроокисления Nap (коэффициент энантиоселективности (i_{p1}/i_{p2})).

3. Известны сенсоры для распознавания и определения энантиомеров Nap на основе следующих хиральных модификаторов:

- L-CYS/AuNPs/Au [A. Afkhami, F. Kafrashi, M. Ahmadi, T. Madrakian, A new chiral electrochemical sensor for the enantioselective recognition of naproxen enantiomers using l-cysteine self-assembled over gold nanoparticles on a gold electrode // RSC Adv., 2015., vol. 5, № 72, pp. 58609],

- GCE/TBO@rGO [L. Guo, Y. Huang, Q. Zhang, C. Chen, D. Guo, Y. Chen, Y. Fu, Electrochemical sensing for naproxen enantiomers using biofunctionalized reduced graphene oxide nanosheets // J. Electrochem. Soc., 2014, vol. 161, № 4, pp. B70],

- GCE/rGO-TsPro-Cs [L. R. Zagitova, Y. A. Yarkaeva, V. V. Zagitov, M. I. Nazyrov, S. Gainanova, V. N. Maistrenko, Voltammetric chiral recognition of naproxen enantiomers by N-tosylproline functionalized chitosan and reduced graphene oxide based sensor // J. Electroanal. Chem., 2022, vol. 922, № 413, pp. 116744],

- CYЭ/β-CD/EG [S. Ebrahimi, A. Afkhami, T. Madrakian, Target -responsive host-guest binding driven dual-sensing readout for enhanced electrochemical chiral analysis // The Analyst., 2021, vol. 146, № 15, pp. 4865].

Сравнение аналитических характеристик приведено в таблице 3.

Таблица 3

Сенсор	Предел обнаружения, мкмоль	Линейный диапазон определяемых концентраций, мкмоль	i_{p1}/i_{p2}	ΔE_p , мВ
L-CYS/AuNPs/Au	0.67	2 - 20	5.4	110
GCE/TBO@rGO	0.33	500 - 1300	2.29	-
GCE/rGO-TsPro-Cs	0.41	20 - 500	1.4	40
СУЭ/ β -CD/EG	0.07	0.4 - 6	2.26	-

Данные сенсоры обладают узким линейным диапазоном концентраций, что ограничивает их применение в электрохимическом распознавании энантиомеров Nap.

4. Известны сенсоры для определения энантиомеров Nap на основе молекулярного импринтинга (MIP):

- MIP/MWCNTs/Fe₃O₄-CuO-ZnO/CPE [M. Vahidifar, Z. Es'haghi, N. M. Oghaz, A. A. Mohammadi, M. S. Kazemi, Multi-template molecularly imprinted polymer hybrid nanoparticles for selective analysis of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and analgesics in biological and pharmaceutical samples // Environ. Sci. Pollut. Res., 2022, vol. 29, pp. 47416-47435],

- NiFe LDH/Au [G. Muruganandama, S. Srinivasan, N. Nesakumar, G. Hariharan, B. M. Gunasekaran, Electrochemical investigation on naproxen sensing and steady-state diffusion analysis using Ni-Fe layered double hydroxide modified gold electrode // Measurement, 2023, vol. 220, pp. 113389],

- MIP@CDs [K. Li, M. Zhang, X. Ye, Y. Zhang, G. Li, R. Fu and X. Chen, Highly sensitive and selective detection of naproxen via molecularly imprinted carbon dots as a fluorescent sensor // RSC Adv., 2021, vol. 11, pp. 29073-29079].

В таблице 4 представлены аналитические характеристики MIP-сенсоров, описанных в литературе.

Таблица 4

Сенсор	Предел обнаружения, мкмоль	Линейный диапазон определяемых концентраций, мкмоль	i_{p1}/i_{p2}	ΔE_p , мВ
MIP/MWCNTs/Fe ₃ O ₄ -CuO-ZnO/CPE	0.001	0.005 - 100	-	-
NiFe LDH/Au	0.32	1 - 307	-	-
MIP@CDs	0.03	0.05 - 4	-	-

Недостатками данных MIP-сенсоров являются использование сложной методики изготовления и необходимость качественного удаления молекул темплатов для получения воспроизводимых результатов и отсутствие энантиоселективности.

Задачей предлагаемого изобретения является разработка экспрессного, недорогого, стабильного и высокочувствительного энантиоселективного вольтамперометрического сенсора, позволяющего определять энантиомерную чистоту фармацевтических препаратов «Напроксен» в модельных растворах, биологических жидкостях и таблетированных формах без предварительного выделения действующего вещества с помощью дифференциально-импульсной вольтамперометрии.

Техническим результатом изобретения является обеспечение возможности определения содержания отдельных энантиомеров оптически активного действующего вещества фармацевтических препаратов «Напроксен» в модельных растворах, биологических жидкостях и таблетированных формах без предварительного выделения действующего вещества с использованием вольтамперометрического метода.

Поставленная задача решается, а указанный технический результат достигается за счет применения энантиоселективного вольтамперометрического сенсора на основе пастового электрода из графитированной термической сажи Carbolblack C, предварительно модифицированной хиральным комплексом никеля(II) с хлорид-анионом на основе (S)-(2-аминометил)пирролидина и 3,5-дитретбутилсалицилового альдегида.

Оптимальное соотношение хиральный модификатор : сажа подобрано, как 1 массовая часть комплекса на 100 массовых частей Carboblack C.

Предложенное техническое решение отличается тем, что в качестве хирального модификатора использован хиральный комплекс никеля - (S)-Ni^{II}-Cl, преимуществом которого является стабильность на воздухе и в водных растворах, что обеспечивает более длительный срок хранения предложенного сенсора, по сравнению с другими, описанными в литературе (Таблица 1).

Предложенное техническое решение отличается тем, что хиральный модификатор (S)-Ni^{II}-Cl обеспечивает энантиодифференцированный аналитический сигнал сразу по двум пикам электроокисления Nap, а также имеет низкую себестоимость, по сравнению с другими хиральными модификаторами, описанными в литературе (Таблица 2).

Предложенное техническое решение отличается тем, что хиральный модификатор (S)-Ni^{II}-Cl обеспечивает больший линейный диапазон концентраций (два порядка), по сравнению с другими хиральными модификаторами, описанными в литературе (Таблица 3).

Предложенное техническое решение отличается тем, что при сопоставимых значениях линейного диапазона определяемых концентраций, энантиоселективность обеспечивается простой процедурой нанесения хирального модификатора (S)-Ni^{II}-Cl на частицы графитированной термической сажи Carboblack C без задействования методики молекулярного импринтинга (Таблица 4).

Предложенный энантиоселективный вольтамперометрический сенсор состоит из не менее трех основных компонентов - тела сенсора, выполненного из цилиндрического тефлонового корпуса и латунной проволоки в качестве электрического коллектора, графитированной термической сажи Carboblack C и хирального модификатора - энантиомерно чистого комплекса никеля(II) с хлорид-анионом на основе (S)-(2-аминометил)пирролидина и 3,5-дитретбутилсалицилового альдегида (S)-Ni^{II}-Cl, который придает сенсору способность к детектированию аналитического сигнала натриевой соли (S)-6-метокси- α -метил-2-нафталинуксусной кислоты. Для связывания модифицированной хиральным комплексом (S)-Ni^{II}-Cl графитированной термической сажи Carboblack C и создания пастообразной массы используется сквалан.

Реализацию предложенного хирального сенсора иллюстрируют следующие примеры:

Методика приготовления СВРЕ/(S)-Ni^{II}-Cl.

Модифицированный пастовый электрод получали тщательным перемешиванием смеси из 1 г графитированной термической сажи CarboblackC и 1 мл раствора модификатора, который готовили из точно взвешенной навески 0.01 г (S)-Ni^{II}-Cl растворенной в 1 мл хлороформа. Полученную смесь помещали в сушильный шкаф на 15 минут при температуре 50°C, после чего к полученному образцу добавляли 0.04 г (2 капли) сквалана и тщательно перемешивали. Подготовленная паста переносилась в полость тефлоновой трубки.

В таблице 5 представлены аналитические характеристики предложенного сенсора для распознавания и определения S- и R- энантиомеров Nap (n = 5, P = 0.95).

Таблица 5

Сенсор	СВРЕ/(S)-Ni ^{II} -Cl
--------	-------------------------------

	Предел обнаружения, мкмоль	0.531 для S-Nар (1 пик) 0.496 для S-Nар (2 пик) 0.740 для R-Nар (1 пик) 0.679 для R-Nар (2 пик)
5	Линейный диапазон определяемых концентраций, мкмоль	50 - 1000 для S-Nар 200 - 1000 для R-Nар
	i_{p1}/i_{p2}	1.43 (по 1 пику) 1.27 (по 2 пику)
	ΔE_p , мВ	10 (по каждому пику)
10	Относительное стандартное отклонение, %	По 1 пику: 0.8 - 2.0 в модельных растворах 1.7 - 4.7 в плазме крови 3.1 - 3.9 в моче По 2 пику: 1.1 - 2.1 в модельных растворах 1.6 - 3.8 в плазме крови 2.0 - 3.1 в моче
15		По 1 пику: 1.6 - 2.3 в налгезине (Производитель: АО "КРКА, д.д. Ново место" Словения) 1.9 - 2.4 в тераливе (Производитель: АО "БАЙЕР" Россия) 1.7 - 2.1 в нексемезине (Производитель: АО "Фармасинтез" Россия) По 2 пику: 1.2 - 2.2 в налгезине (Производитель: АО "КРКА, д.д. Ново место" Словения) 1.9 - 2.6 в тераливе (Производитель: АО "БАЙЕР" Россия) 2.1 - 2.2 в нексемезине (Производитель: АО "Фармасинтез" Россия)
20	Правильность, %	По 1 пику: 99.6 - 100.7 в модельных растворах 99.6 - 100.7 в плазме крови 99.7 - 101.3 в моче По 2 пику: 99.3 - 102.0 в модельных растворах 99.7 - 101.0 в плазме крови 99.3 - 101.0 в моче
25		По 1 пику: 99.7 - 100.2 в налгезине (Производитель: АО "КРКА, д.д. Ново место" Словения) 99.2 - 100.0 в тераливе (Производитель: АО "БАЙЕР" Россия) 99.7 - 100.4 в нексемезине (Производитель: АО "Фармасинтез" Россия) По 2 пику: 100.8 - 101.3 в налгезине (Производитель: АО "КРКА, д.д. Ново место" Словения) 99.6 - 101.0 в тераливе (Производитель: АО "БАЙЕР" Россия) 100.2 - 100.7 в нексемезине (Производитель: АО "Фармасинтез" Россия)
	Стабильность при хранении, дни	20

Из представленных в Таблице 4 аналитических характеристик следует, что разработанный энантиоселективный вольтамперометрический сенсор обладает хорошей стабильностью, широким линейным диапазоном определяемых концентраций, возможностью дискриминации энантиомеров Нар по двум пикам окисления с высокими коэффициентами энантиоселективности (i_{p1}/i_{p2}), разностью потенциалов (ΔE_p), а также низким пределом обнаружения, что позволяет проводить высокоточное количественное определение энантиомеров Нар в модельных растворах, биологических жидкостях и таблетированных формах без предварительного выделения действующего вещества. Разработанный сенсор характеризуется низкой стоимостью, простотой изготовления, доступностью, а также воспроизводимостью результатов анализа.

(57) Формула изобретения

Энантиоселективный вольтамперометрический сенсор на основе пастового электрода из графитированной термической сажи Carboblack C, предварительно модифицированной хиральным комплексом никеля(II) с хлорид-анионом на основе (S)-(2-аминометил)пирролидина и 3,5-дитретбутилсалицилового альдегида (S)-Ni^{II}-Cl, взятым в соотношении 1 массовая часть комплекса на 100 массовых частей Carboblack C.