



УДК 543.068.8:543.63

## Синтез методом фотополимеризации и применение тонких пленок полимеров с молекулярными отпечатками для молекулярного распознавания цефалоспоринов

Фарафонова О.В., Потанина А.Ю., Тарасова Н.В., Ермолаева Т.Н.

*Липецкий государственный технический университет, Липецк*

Поступила в редакцию 25.04.2018 г.

DOI: <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2018.18/557>

Разработана методика фотохимического синтеза тонких пленок ПМО цефалоспоринов, включающая иммобилизацию антибиотиков на модифицированную  $\gamma$ -аминопропилтриэтоксисиланом поверхность электрода пьезоэлектрического сенсора и последующее дозирование неводного раствора метакриловой кислоты, этиленгликольдиметакрилата и 2,2-азобис(изобутиронитрила) на подготовленную поверхность сенсора. Установлены оптимальные концентрации цефалоспоринов ( $0.5 \text{ мг/см}^3$ ), объемы полимеризационной смеси ( $2.5\text{--}5 \text{ мм}^3$ ), массы формируемых пленок ПМО и НИП методом пьезокварцевого микровзвешивания. Приведены уравнения градуировочных функций (коэффициент корреляции – 0.98 для цефтазида и цефтриаксона и 0.99 для цефотаксима), установлены диапазоны определяемых содержаний ( $1\text{--}26 \text{ мкг/см}^3$  для цефтазида,  $1\text{--}31 \text{ мкг/см}^3$  для цефтриаксона и  $1\text{--}34 \text{ мкг/см}^3$  для цефотаксима) и пределы обнаружения антибиотиков.

**Ключевые слова:** молекулярно импринтированные полимеры, фотополимеризация, не ковалентный импринтинг, предполимеризационный комплекс.

## Synthesis by photopolymerization and the use of thin films of polymers with molecular prints for the mo- lecular recognition of cephalosporins

Farafonova O.V., Potanina A.U., Tarasova N.V., Ermolaeva T.N.

*Lipetsk State Technical University, Lipetsk*

The conditions for obtaining thin MIP films unlimitedly soluble in water on the electrode sensor surface were studied. The process involved the immobilization of cephalosporins from aqueous solutions to the self-assembled  $\gamma$ -aminopropyltriethoxysilane layer through glutaraldehyde and photopolymerization of a mixture containing the initiator of the polymerization 2,2-azobis (isobutyronitrile), functional and crossmonomers: methacrylic acid and ethylene glycol dimethacrylate. By the method of piezoquartz microweighing were estimated the coating mass after the MIP film formation, the desorption mass of cephalosporin molecules from it, and by the difference between them, the mass of the cephalosporin built into the MIP. Established that the use of a concentration of cefotaxime and ceftazidime of  $0.5 \text{ mg/cm}^3$  at the immobilization stage leads to the formation of a maximum number of molecular imprints on the film surface. Studied the influence of the polymerization mixture volume dosed to the electrode surface on the concentration of cephalosporins surface imprints. As a result of three cycles of cephalosporins sorption / desorption, was observed a decrease in the MIP mass with  $1.5 \text{ }\mu\text{l}$  of the polymerization mixture, and an increase in the mixture volume to  $2.5\text{--}5 \text{ }\mu\text{l}$  increased the stability of the MIP film. A comparison of the sorptive cefotaxime mass from a stan-

standard solution at concentrations of  $20 \mu\text{g}/\text{cm}^3$  with triple antibiotic sorption on MIP films obtained with the application of  $2.5 \mu\text{l}$  of the polymerization mixture showed that the mass of sorbed cefotaxime remains practically constant. Selected the composition of the regenerating solution: a solution of acetic acid and ethanol in water, taken in volume ratios of 1:6:100. Surface profiles obtained by atomic force microscopy of the MIP layer were compared before and after the sorption of cephalosporin and the NIP. Established the calibration functions equations of the piezoelectric sensor for the determination of cephalosporins (the correlation coefficient is 0.98 for ceftazidime and ceftriaxone and 0.99 for cefotaxime). Identified the ranges of the detected contents and the detection limits of antibiotics. Evaluated the values of the imprinting factor  $\Delta F_{MIP}:\Delta F_{NIP}$ , allowing to estimate the contribution to the sensor analytical signal of specific and nonspecific interactions. The piezoelectric MIP sensor was tested in the analysis of ceftazidime, ceftriaxone, cefotaxime in calf blood plasma.

**Keywords:** molecular imprinted polymers, photopolymerization, non-covalent imprinting, prepolymerization complex.

## Введение

Как правило, при получении пленок полимера с молекулярными отпечатками (ПМО) методом фотополимеризации на поверхность электрода сенсора дозируется раствор, содержащий смесь функционального и кросс-мономеров, темплата и инициатора полимеризации, а затем осуществляется полимеризация под действием УФ-излучения. Во время синтеза ПМО молекулы темплата встраиваются в пространственную матрицу полимера и выступают центрами, вокруг которых образуются комплементарные отпечатки специфического размера, формы и характера, называемые также «сайтами» молекулярной памяти. Наиболее перспективно использование ПМО в качестве распознающих элементов сенсоров, в частности, пьезоэлектрических гравиметрических сенсоров [1]. Достоинства и недостатки пьезоэлектрических сенсоров на основе пленок ПМО, синтезированных методом фотополимеризации, достаточно подробно описаны в зарубежной литературе [2-5], однако до сих пор отсутствует единый оптимальный подход для получения пригодных для практического использования покрытий ПМО, в том числе полимеров, импринтированных рядом антибиотиков, например, цефалоспоринов.

К настоящему времени при синтезе ПМО наиболее часто используются методы ковалентного [6] (на основе обратимых ковалентных взаимодействий между молекулами функционального мономера и шаблона) и не ковалентного (основанного на множественных не ковалентных взаимодействиях) [7, 8] импринтинга, доминирующего при создании распознающих слоев сенсоров. Стратегия не ковалентного импринтинга предполагает использование малополярных (неводных) растворителей, поскольку они способны стабилизировать не ковалентные взаимодействия «шаблон-мономер» в предполимеризационной смеси, что имеет большое значение для успешного синтеза. При синтезе же в водной среде не ковалентным методом диполи воды образуют множество водородных связей с шаблоном, нарушая его взаимодействие с мономером, вследствие чего получение этим способом ПМО веществ, не растворимых в органических растворителях, затруднено. Поэтому до настоящего времени практически отсутствуют методики синтеза ПМО соединений, неограниченно растворимых в воде и практически нерастворимых в органических растворителях соединений. К таким соединениям относятся эффективные и низкотоксичные  $\beta$ -лактамные антибиотики - цефалоспорины, специально синтезированные для парентерального применения, занимающие одно из ведущих мест по частоте клинического использования. Большинство цефалоспоринов практически не метаболизируются в организме, поэтому необходим контроль за их выведением из организма и коррекции дозировки.

Цель работы: изучить условий получения не ковалентным методом фотополимеризованных молекулярно импринтированных тонких пленок непосредственно на поверхности электрода пьезоэлектрического сенсора и оценить распознающие свойства ПМО цефалоспоринов.

## Эксперимент

Для синтеза ПМО применяли следующие реактивы: цефтриаксона динатриевая соль («Биохимик», Россия), цефотаксим натрия («Борисовский завод медицинских препаратов», Россия), цефтазидим натрия («АЛВИЛС», Россия), для оценки мешающего влияния - тетрациклина гидрохлорид («Алмабион», Россия), пенициллин G («Биохимик», Россия), цефоперазон натрия («АЛВИЛС», Россия). В качестве функционального мономера использовали метакриловую кислоту (ММА) («Вектон», Россия), кросс-мономера – этиленгликольдиметакрилат (EGDM) («Aldrich Chemistry», США), инициатора полимеризации 2,2-азобис(изобутиронитрил) (AIBN) («Лабтех», Россия). Для получения подложки и иммобилизации цефалоспоринов применяли  $\gamma$ -аминопропилтриэтоксисилан (APTS) и глутаровый альдегид (GA) («Sigma-Aldrich», Великобритания). Для получения регенерирующего водного раствора смешивали уксусную кислоту и этиловый спирт в объемном соотношении 1:6:100.

Апробацию сенсора осуществляли в плазме крови теленка (PAA Laboratories, Австрия), которую предварительно разбавляли для уменьшения вязкости.

В качестве сенсоров применяли пьезокварцевые резонаторы АТ-среза с собственной частотой колебаний 10 МГц, 8 мм в диаметре с 5 мм золотыми электродами («ЭТНА», Россия). Измерение аналитического сигнала проводили на воздухе на установке, описанной ранее [9], состоящей из генератора колебаний Б5-30 и цифрового модуля Discore («Бафика», Россия) в комплекте с персональным компьютером, при температуре  $25 \pm 5^\circ\text{C}$  после высушивания сенсора до постоянной массы. Исследование процесса полимеризации и характеристику тонких пленок ПМО осуществляли методом пьезокварцевого микровзвешивания, ИК-спектроскопии (ИК-спектрометр Shimadzu Irtaffinity-1, Япония) и атомной силовой микроскопии (сканирующий зондовый микроскоп Solver P47-PRO ЗАО «Нанотехнология-МДТ», Россия).

Синтез пленок ПМО цефалоспоринов осуществляли в 2 этапа. Сначала на предварительно очищенную азотной кислотой ( $\rho=1.35 \text{ г/см}^3$ ) и этанолом поверхность золотого электрода сенсора наносили  $0.001 \text{ см}^3$  2.5%-ного раствора APTS в ацетоне («Вектон», Россия) и высушивали при температуре  $75^\circ\text{C}$  в течение 40 мин. Далее на слой APTS дозировали  $0.005 \text{ см}^3$  2.5%-ного водного раствора глутарового альдегида и спустя 20 мин смывали излишки фосфатным буферным раствором ( $\text{pH}=7.2$ ). Полученный слой высушивали до постоянной массы, а затем наносили водный раствор цефалоспорина с концентрацией  $1 \text{ мг/см}^3$ , выдерживали в течение суток, далее не связавшиеся с подложкой цефалоспорины удаляли фосфатным буферным раствором и высушивали до постоянной массы.

На втором этапе получали ПМО цефалоспоринов методом фотополимеризации. Полимеризационную смесь (0.6 ммоль ММА, 2 ммоль EGDM, 0.02 ммоль AIBN) обрабатывали ультразвуком (ультразвуковая ванна ПСБ – 2835-03 (40 кГц, «ПСБ-Галс», Россия) в течение 5 мин, затем дозировали смесь на подготовленную поверхность сенсора и помещали сенсор под УФ-лампу на 1 час (газоразрядная дуговая ртутная лампа высокого давления, мощностью 250 Вт). Синтез не импринтированных полимерных пленок (НИП) производился по методике 2 этапа синтеза ПМО.

Измерение аналитического сигнала производилось после высушивания сенсора до постоянной массы на воздухе до и после формирования пленки ПМО, встраивания в молекулярные отпечатки и удаления молекул цефалоспоринов. Масса покрытия сенсора ( $\Delta m_{\text{ПМО}}$ , мкг) рассчитывалась по уравнению Зауэрбрея:  $\Delta F(\text{Гц}) = 3 \cdot 10^6 \cdot F_0^2 \cdot \Delta m_{\text{ПМО}} / S$ , где  $S$  - площадь электрода пьезокварцевого сенсора,  $\text{см}^2$  ( $0.10066 \text{ см}^2$ ),  $F_0$  - базовая частота колебаний резонатора, Гц.

Для исключения влияния неспецифической сорбции значение аналитического сигнала измеряли относительно сенсора сравнения на основе НИП:  $\Delta F_{\text{ан}} = \Delta F_{\text{ПМО}} - \Delta F_{\text{НИП}}$ , Гц, где  $\Delta F_{\text{ПМО}}$  и  $\Delta F_{\text{НИП}} = F_1 - F_2$  - изменение частоты колебаний сенсора с покрытием из ПМО или НИП,  $F_1$ ,  $F_2$  частота колебаний сенсора до и после погружения в раствор аналита.

## Обсуждение результатов

Поскольку цефалоспорины неограниченно растворимы в воде и образуют с ее молекулами водородные связи, препятствующие формированию предполимеризационного комплекса с функциональным мономером, использование стандартной методики не ковалентного импринтинга затруднено. Исследованы условия получения тонких пленок ПМО на поверхности электрода сенсора в несколько стадий (рис. 1), включающих иммобилизацию цефалоспоринов из водных растворов на самоорганизованный слой APTS через GA, и фотополимеризацию дозированной на подготовленный слой смеси, содержащей инициатор полимеризации AIBN, функциональный (MAA) и кросс-мономеры (EGDM) на основе смешанного растворителя (ацетонитрил, уксусная кислота, тетрагидрофуран, взятые в соотношении 8.1:1.75:0.15 об. %).

При этом было необходимо установить влияние концентрации цефалоспоринов на стадии иммобилизации на количество поверхностных отпечатков; объем полимеризационной смеси, позволяющий формировать на поверхности пленки ПМО максимальное количество «активных» поверхностных отпечатков; устойчивость пленки ПМО после многократных процессов сорбции/десорбции молекул цефалоспоринов.

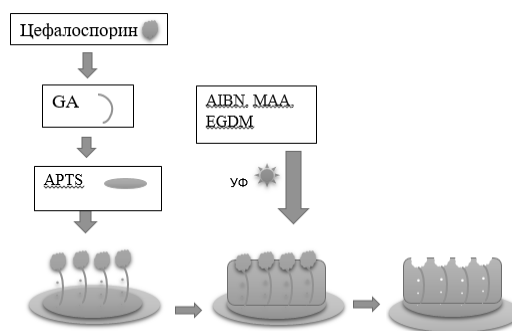


Рис. 1. Схема получения ПМО цефалоспоринов

Концентрация цефалоспоринов (цефтазидим, цефтриаксон, цефотаксим) на стадии иммобилизации влияет не только на количество поверхностных сайтов молекулярного распознавания, но и их доступность для повторного связывания. Методом пьезокварцевого микровзвешивания (табл. 1) устанавливали массу покрытия после формирования пленки ПМО ( $m_1$ ), десорбции с нее молекул цефалоспоринов ( $m_2$ ), а по разности между ними массу встроенного в ПМО цефалоспорина  $\Delta m$ . Молярную концентрацию поверхностных отпечатков рассчитывали по следующему уравнению  $R = \Delta m / (S \cdot M_{\text{цеф}})$ , где  $S$  - площадь электрода пьезокварцевого сенсора ( $0.10066 \text{ см}^2$ ),  $M_{\text{цеф}}$  - молярная масса цефалоспорина. Экспериментально установлено, что приме-

нение на стадии иммобилизации концентрации цефотоксина и цефтриаксина, равной  $0.5 \text{ мг/см}^3$  приводит к формированию на поверхности пленки ПМО максимального количества молекулярных отпечатков. Повышение содержания цефалоспоринов свыше  $0.5 \text{ мг/см}^3$  сопровождается снижением числа поверхностных отпечатков, что, вероятно, связано с включением большого числа молекул антибиотиков в толщу полимера.

Таблица 1. Влияние концентрации цефалоспоринов ( $C$ ,  $\text{мг/см}^3$ ) на количество поверхностных отпечатков

$C$ , $\text{мг/см}^3$	$m_1$ , $\text{мкг}$	$m_2$ , $\text{мкг}$	$\Delta m$ , $\text{мкг}$	$R$ , $\text{мкмоль/см}^2$
Цефотаксим				
0.01	27.10	27.19	0.09	0.0010
0.1	27.11	27.52	0.41	0.0046
0.5	27.12	28.36	1.24	0.0139
0.7	27.14	28.19	1.05	0.0117
Цефтриаксон				
0.01	27.16	27.39	0.13	0.0012
0.1	27.17	27.73	0.56	0.0051
0.5	27.18	28.68	1.47	0.0135
0.7	27.20	28.43	1.23	0.0113

Для получения тонких пленок ПМО с доступными для последующей сорбции молекулярными отпечатками варьировали объем полимеризационной смеси, дозируемой на поверхность электрода. Сенсор с полимеризованным слоем ПМО был использован для проведения трех циклов сорбции/десорбции. После каждого цикла измеряли аналитический сигнал сенсора и рассчитывали массу полимера и цефалоспорина ( $m_{\text{ПМО}}$  – начальная масса ПМО после удаления цефалоспорина,  $m_{\text{п.выл1}}$ ,  $m_{\text{п.выл2}}$ ,  $m_{\text{п.выл3}}$  – соответственно масса ПМО после первого, второго и третьего цикла сорбции/десорбции,  $\Delta m$  – суммарное изменение массы сенсора). В результате трех циклов сорбции/десорбции цефалоспоринов (табл. 2) наблюдалось существенное снижение массы ПМО, полученного при использовании 1.5 мкл полимеризационной смеси для всех исследованных антибиотиков, что, вероятно, связано с недостаточной толщиной полимерного слоя, который только частично связывает молекулы цефалоспорина, поэтому наряду с удалением молекул антибиотиков происходило разрушение слоя ПМО. Увеличение объема смеси до 2.5-5 мкл повышает стабильности пленки ПМО, что свидетельствует о прочном связывании молекул цефалоспорина с функциональным мономером в предполимеризационный комплекс и образовании более устойчивой полимерной структуры, сохраняющейся после трех циклов сорбции/десорбции цефалоспоринов. Об этом свидетельствует отношение  $m_{\text{п.выл3}}/m_{\text{ПМО}}$ , приближающееся к 100%. В то же время применение 10 мкл сопровождается снижением устойчивости распознающего слоя, что объясняется перемещением образующихся вокруг молекулы антибиотика предполимеризационных комплексов вглубь объема полимера, и поэтому при воздействии водных растворов из пленки одновременно с гидрофильным цефалоспорином удаляется большое количество связанных с ним мономеров, что вызывает частичную деструкцию ПМО.

Путем сравнения массы сорбируемого цефотаксима из стандартного раствора с концентраций  $20 \text{ мкг/см}^3$  при трехкратной сорбции антибиотика на пленках ПМО, полученных при применении 2.5 мкл полимеризационной смеси (табл. 3), было установлено, что масса сорбируемого цефотаксима сохраняется практически постоянной. Это позволяет констатировать, что в случае многократного использования сенсора на основе ПМО цефотаксима значимого сокращения числа поверхностных молекулярных отпечатков не происходит, отпечатки для молекулярного распознавания

достаточно устойчивы как по размеру, так и функциональности и позволяют распознавать и сорбировать одинаковые количества антибиотика из водных растворов.

Таблица 2. Влияние объема полимеризационной смеси ( $V_{смеси}$ ) на устойчивость пленки ПМО цефотаксима

$V_{смеси}$ , МКЛ	$m_{ПМО}$	$m_{п.вым1}$	$m_{п.вым2}$	$m_{п.вым3}$	$\Delta m$	Отношение, % $m_{п.вым3}/m_{ПМО}$
	МКГ					
1.5	12.92	12.3	10.59	7.38	5.54	57.12
2.5	16.73	16.61	16.04	15.21	1.24	90.92
5	27.11	27.02	26.65	25.87	1.52	95.43
10	44.73	41.32	32.47	28.56	16.17	63.85

Таблица 3. Изменение массы включенного в молекулярные отпечатки цефотаксима в процессе трехкратных циклов сорбции/десорбции (есть разъяснение в тексте)

$V_{смеси}$ , МКЛ	$\Delta m_{ц1}$	$\Delta m_{ц2}$	$\Delta m_{ц3}$	Отношение, % $\Delta m_{ц3}/\Delta m_{ц1}$
	МКГ			
2.5	1.13	1.11	1.10	97.35
5	1.39	1.33	1.24	89.20

Существенное влияние на устойчивость слоя ПМО оказывает процесс десорбции цефалоспоринов. Предварительные исследования позволили выбрать состав регенерирующего раствора: раствор уксусной кислоты и этанола в воде, взятых в объемных соотношениях 1:6:100, за 6 мин максимально извлекает молекулы цефалоспоринов из полимерной матрицы. Максимальное встраивание цефотаксима в поверхностные молекулярные отпечатки происходит за 5 мин.

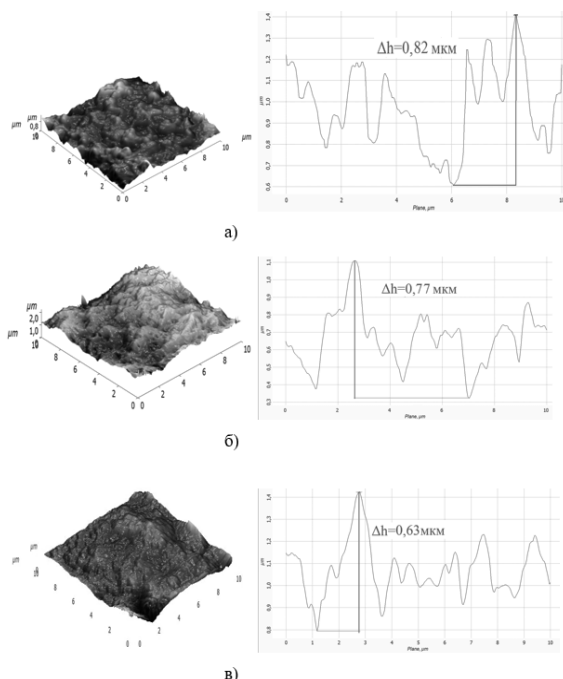


Рис. 2. Снимки ( $10 \times 10$  мкм) и профили поверхности, полученные с помощью АСМ: а) – для покрытия ПМО после вымывания темплата, б) - для покрытия синтезированного полимера до вымывания темплата и образования сайтов молекулярного распознавания, в) - для покрытия НИП

Сопоставление снимков и профилей поверхности полимерного слоя выявило существенные различия морфологии пленок ПМО до и после удаления молекул цефалоспоринов и НИП (рис. 2). Количественно различие в морфологии поверхностей

характеризовали по величине удельной шероховатости профиля поверхности  $Ra$ , рассчитанной по программе Nova. Самые большие значения  $Ra$  и  $\Delta h$  (величина максимального перепада уровней поверхности) соответствуют плёнке ПМО после удаления молекул цефалоспоринов, что свидетельствует об образовании молекулярных отпечатков, которые создают искусственную неровность. Минимальные значения  $Ra$  и  $\Delta h$  отмечаются для более гладкой пленки НИП. Таким образом, проведенные исследования топографии поверхности свидетельствуют о том, что на поверхности ПМО происходит образование сайтов молекулярной памяти, что влияет на морфологию поверхности ПМО.

Характеристика пьезоэлектрических сенсоров на основе ПМО цефалоспоринов. Для применения пьезоэлектрических сенсоров на основе ПМО для определения цефалоспоринов были получены уравнения градуировочных функций (коэффициент корреляции – 0.98 для цефтазидима и цефтриаксона и 0.99 для цефотаксима), установлены диапазоны линейности градуировочных функций, рассчитаны пределы обнаружения антибиотиков и импринтинг-фактор  $\Delta F_{ПМО}:\Delta F_{НИП}$ , позволяющий оценить вклад в аналитический сигнал сенсора специфических и неспецифических взаимодействий (табл. 4).

Таблица 4. Характеристики пьезокварцевого сенсора на основе пленов ПМО цефалоспоринов

Антибиотик	Уравнение градуировочной функции	Линейный диапазон определяемых содержаний, мкг/см <sup>3</sup>	Предел обнаружения, мкг/см <sup>3</sup>	$\Delta F_{ПМО}/\Delta F_{НИП}$
Цефтазидима	$\Delta F=73.5 C + 127$	1 – 26	0.41	4.0
Цефтриаксона	$\Delta F=75.9 C + 58.3$	1 – 31	0.40	4.1
Цефотаксима	$\Delta F=64.0 C + 170$	1 - 34	0.41	3.9

Достаточно узкий интервал линейности градуировочных функций может быть связан с определением цефалоспоринов в прямом формате «псевдоиммуноанализа», который обычно не применяется для детектирования низкомолекулярных соединений. Обычно для ПМО импринтинг-фактор на уровне 2.5 и более свидетельствует о селективности сорбента. Рассчитанные значения  $\Delta F_{ПМО}/\Delta F_{НИП}$ . ПМО цефалоспоринов показывают превышение вклада специфической сорбции над неспецифической в 4 раза для всех исследованных цефалоспоринов. Влияние строения и молекулярной массы определяемого цефалоспоринов сказывается как на величине максимально сорбируемого молекулярными отпечатками антибиотика ( $\Delta m_{встmax}$ ), так и поверхностной концентрации отпечатков  $R$  (рис. 3). Величины ( $\Delta m_{max}$ , мкг), характеризующие количество цефалоспоринов, участвующих в образовании поверхностных молекулярных отпечатков составили  $2.43 \pm 0.4$ ;  $2.34 \pm 0.4$  и  $2.15 \pm 0.2$ , а значения массы сорбируемых молекул цефалоспоринов ( $\Delta m_{встmax}$ ) –  $1.92 \pm 0.4$ ,  $1.89 \pm 0.3$  и  $1.71 \pm 0.2$  для цефтриаксона, цефтазидима и цефотаксима соответственно. Близкие величины  $\Delta m_{встmax}$  для цефтриаксона и цефтазидима объясняются примерно одинаковыми значениями молекулярной массы (546.6 и 554.6 г/моль) и, следовательно, объема молекул в отличие от молярной массы цефотаксима (455.5 г/моль). Концентрация же молекулярных отпечатков в зависимости от строения цефалоспоринов изменяется антибатно (рис. 3).

Оценка ложных положительных взаимодействий ПМО с другими веществами родственной структуры производилась с помощью коэффициента кросс-реактивности  $CR$  ( $CR = \Delta F_{меш} / \Delta F_{цеф}$ ; где  $\Delta F_{цеф}$ ,  $\Delta F_{меш}$  – аналитический сигнал ПМО-

сенсора в растворе аналита и мешающего вещества, соответственно). Значения  $CR$  существенно зависят от структуры соединений (в табл. 5 выделены фрагменты молекул, благодаря которым наиболее вероятно возникновение не ковалентных взаимодействий между молекулами мешающего вещества и ПМО цефалоспоринов, приводящее к частичной сорбции мешающих веществ). Приведенные в табл. 5 данные свидетельствуют о том, что возможно селективное определение целевого аналита в присутствии равных и даже превышающих концентраций пенициллина G, тетрациклина и сальбутамола. В то же время селективное определение цефотаксима невозможно в присутствии сопоставимых концентраций цефтриаксона ( $CR_2=0.73$ , а цефтриаксона в присутствии цефотаксима ( $CR_1=0.66$ ), однако это не является препятствием к использованию сенсора, поскольку совместное использование цефалоспоринов не практикуется.

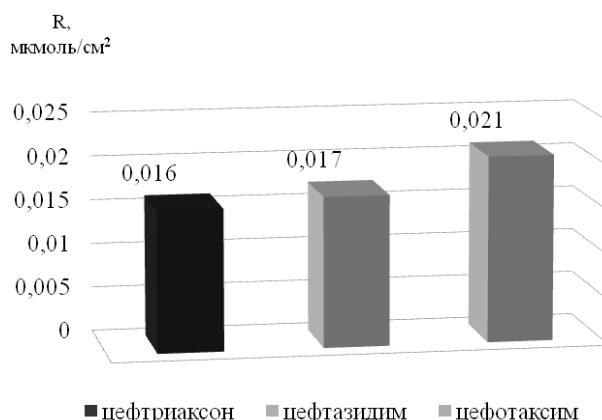
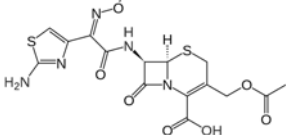
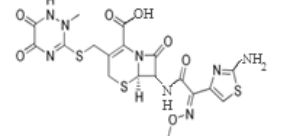
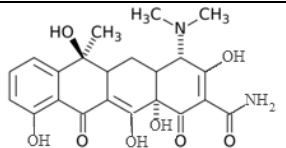
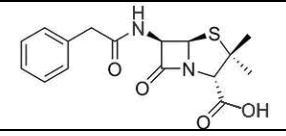
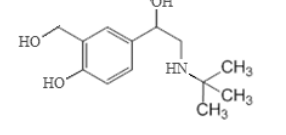


Рис. 3. Зависимость величины  $R$  от молекулярной массы цефалоспоринов

Таблица 5. Коэффициенты кросс-реактивности ПМО-сенсоров цефтриаксона ( $CR_1$ ) и цефотаксима ( $CR_2$ )

Аналит	Структурная формула	$CR_1$	$CR_2$
Цефотаксим		0.66	1.00
Цефтриаксон		1.00	0.73
Тетрациклин		0.14	0.17
Пенициллин G		0.03	0.03
Сальбутамол		0.21	0.17



Пьезоэлектрический ПМО сенсор был апробирован при определении цефтазидима, цефтриаксона, цефотаксима в плазме крови теленка (табл. 6). Измерение аналитического сигнала ПМО сенсора осуществлялось относительно сенсора на основе НИП. Методом «введено-найдено» установлено отсутствие систематической погрешности в результатах определения цефалоспоринов, процент открытия близок к 100%, что свидетельствует об отсутствии значимого мешающего влияния белковых молекул, присутствующих в пробе, и вязкости анализируемого раствора.

Таблица 6. Определение цефалоспоринов в плазме крови (P=0.95, n=5)

Образец	Введено, мкг/см <sup>3</sup>	Найдено, мкг/см <sup>3</sup>	Процент открытия	s <sub>r</sub>
Цефтазидим				
1	5.0	5.1±0.2	102	0.02
2	10.0	10.1±0.1	100	0.02
Цефтриаксон				
1	5.0	4.9±0.3	98	0.02
2	10.0	9.9±0.4	99	0.02
Цефотаксим				
1	5.0	5.0±0.1	100	0.01
2	10.0	10.1±0.1	101	0.01

### Заключение

Применение способа не ковалентного синтеза фотополимеризованных молекулярно импринтированных цефалоспоринами пленок приводит к получению устойчивых распознающих слоев на поверхности электрода пьезоэлектрического сенсора. ПМО-сенсоры позволяют осуществлять молекулярное распознавание, чувствительное и селективное определение цефтазидима, цефтриаксона, цефотаксима в биологических жидкостях.

*Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ  
(грант 13-03-97505-р\_центр\_а) «Селективность и эффективность молекулярного  
распознавания и определения гормонов и бэта-агонистов с помощью пьезокварцевого  
иммуно- и биомиметического сенсора».*

### Список литературы

1. Ермолаева Т.Н., Чернышова В.Н., Чеснокова Е.В., Бессонов О.И. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2015. Т. 15. № 2. С. 151-167.
2. Tsuru N., Kikuchi M., Kawaguchi H., Shiratori S. // *Thin Solid Films*. 2006. Vol. 499. pp. 380-385.
3. Shoji R., Takeuchi T., Kubo I. // *Anal. Chem*. 2003. Vol. 75. No 18. pp. 4882-4886.
4. Panasyuk-Delaney T., Mirsky V.M., Wolfbeis O.S. // *Electroanalysis*. 2002. Vol. 14. pp. 221-224.
5. Piacham T., Josell A., Arwin H., Prachayasittikul V. et al. // *Anal. Chim. Acta*. 2005. Vol. 535. pp. 191-196.
6. Wulff G. // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1995. Vol. 34. pp. 1812-1832.
7. Mosbach K. // *Trends Biochem. Sci.* 1994. Vol. 19. pp. 9-14.
8. Haupt K. // *Analyst*. 2001. Vol. 126. pp. 747-756.
9. Karaseva N., Ermolaeva T., Mizaikoff B. // *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2016. Vol. 225. pp. 199-208.

## References

1. Ermolaeva T.N., Chernyshova V.N., Chesnokova E.V., Bessonov O.I., *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2015, Vol. 15, No 2, pp. 151-167.
2. Tsuru N., Kikuchi M., Kawaguchi H., Shiratori S., *Thin Solid Films*, 2006, Vol. 499, pp. 380-385.
3. Shoji R., Takeuchi T., Kubo I., *Anal. Chem.*, 2003, Vol. 75, No 18, pp. 4882-4886.
4. Panasyuk-Delaney T., Mirsky V.M., Wolfbeis O.S., *Electroanalysis*, 2002, Vol. 14, pp. 221-224.
5. Piacham T., Josell A., Arwin H., Prachayasittikul V., et al., *Anal. Chim. Acta*, 2005, Vol. 535, pp. 191-196.
6. Wulff G., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1995, Vol. 34, pp. 1812-1832.
7. Mosbach K., *Trends Biochem. Sci.*, 1994, Vol. 19, pp. 9-14.
8. Haupt K., *Analyst*, 2001, Vol. 126, pp. 747-756.
9. Karaseva N., Ermolaeva T., Mizaikoff B., *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2016, Vol. 225, pp. 199-208.

**Фарафонова Ольга Вячеславовна** – доцент кафедры химии, к.х.н., Липецкий государственный технический университет, Липецк

**Потанина Алиса Юрьевна** - студент, Липецкий государственный технический университет, Липецк

**Тарасова Наталия Владимировна** – доцент кафедры нанотехнологий, к.т.н., Липецкий государственный технический университет, Липецк

**Ермолаева Татьяна Николаевна** – профессор кафедры химии, д.х.н., Липецкий государственный технический университет, Липецк

**Farafonova Olga V.** - associate prof., Ph.D. (chemistry), department of chemistry, Lipetsk State Technical University, Lipetsk, e-mail: farafonova.ov@mail.ru

**Potanina Alisa Y.** – student, Lipetsk State Technical University, Lipetsk, e-mail: etn@stu.lipetsk.ru

**Tarasova Natalia V.** - associate prof., Ph.D. (Technical), department of nanotechnologies, Lipetsk State Technical University, Lipetsk, e-mail: tarnv82@mail.ru

**Ermolaeva Tatyana N.** - prof., grand Ph.D (chemistry), department of chemistry, Lipetsk State Technical University, Lipetsk, e-mail: etn@stu.lipetsk.ru