

УДК 543.866

УГЛЕРОДНЫЕ НАНОМАТЕРИАЛЫ КАК МОДИФИКАТОРЫ ПОВЕРХНОСТИ ЭЛЕКТРОДОВ ПРИ РАЗРАБОТКЕ АМПЕРОМЕТРИЧЕСКИХ МОНОАМИНОКСИДАЗНЫХ БИОСЕНСОРОВ

© Д. В. Брусницын, Э. П. Медянцева, Р. М. Варламова,
Р. Р. Ситдикова, А. Н. Фаттахова, О. А. Коновалова, Г. К. Будников¹

Статья поступила 24 февраля 2015 г.

Модификация поверхности печатных графитовых электродов углеродными наноматериалами (углеродные нанотрубки, оксид графена) использована для улучшения аналитических возможностей амперометрических моноаминоксидазных биосенсоров при определении лекарственных веществ с антидепрессивным действием (моклубемид, амитриптилин). Установлено, что диапазон определяемых концентраций лекарственных веществ изменяется от $1 \cdot 10^{-4}$ до $1 \cdot 10^{-8}$ моль/л. Разработанные моноаминоксидазные биосенсоры использованы для определения лекарственных веществ в лекарственных препаратах.

Ключевые слова: биосенсоры; моноаминоксидаза; оксид графена; углеродные нанотрубки; антидепрессанты.

В настоящее время для определения лекарственных веществ наиболее широко используют различные варианты хроматографии [1 – 4]. Однако хроматографические методы имеют определенные недостатки: дос-

точно сложное оборудование, необходимость наличия квалифицированного персонала и проведения предварительной пробоподготовки при определении низких концентраций веществ. В связи с этим биосенсорные технологии приобретают все большее распространение, поскольку позволяют решить ряд проблем

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань; Россия; e-mail: brussman@mail.ru

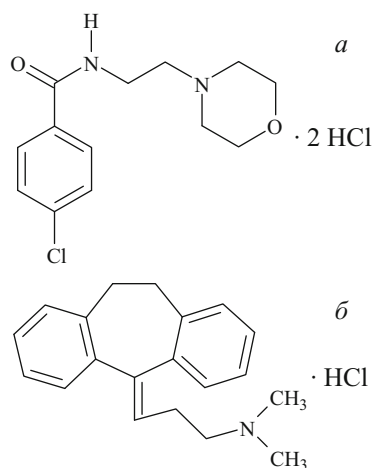


Рис. 1. Структурные формулы лекарственных веществ: *a* — моклобемид — *n*-хлор-*N*-(2-морфолиноэтил)бензамид дигидрохлорид; *б* — амитриптилин — 5-(3-диметиламинопропилен)-10,11-дигидродибензоциклопентен) гидрохлорид

селективного и чувствительного определения лекарственных веществ.

Одним из важных факторов, определяющих аналитические и операционные характеристики вольтамперометрических сенсоров и амперометрических биосенсоров, является выбор наилучшего наноструктурированного модификатора поверхности электродов, служащих основой соответствующих биосенсоров. Среди всего многообразия наноструктурированных модификаторов особое место занимают углеродные наноматериалы [5 – 7], к которым относятся углеродные нанотрубки и оксид графена [8, 9]. Выбор модификаторов объясняется высокой электропроводностью нанотрубок [10], широкими возможностями функционализации оксида графена [11 – 13], доступной стоимостью и возможностью приобретения этих коммерческих материалов.

Определение лекарственных веществ является актуальной задачей при контроле за приемом лекарственных препаратов пациентами и мониторинге лекарственных веществ в биологических жидкостях [14, 15]. К числу таких лекарственных препаратов относятся «Амитриптилин» и «Ауриорикс»: первый — классический трициклический антидепрессант, содержащий лекарственное вещество амитриптилин, второй — современный неклассический антидепрессант, который включает лекарственное вещество моклобемид [16].

Цель исследования — выбор наилучшего углеродного наноматериала (среди углеродных нанотрубок и оксида графена) при разработке моноаминоксидазных биосенсоров для высокочувствительного и селективного определения амитриптилина и моклобемида в содержащих их лекарственных препаратах.

В качестве первичного преобразователя биосенсоров использована система печатных графитовых электродов 3 в 1 (изготовлены на кафедре аналитической химии КФУ), состоящая из рабочего и вспомогатель-

ного электродов (графитовые чернила Gwent Electronic Materials, США) и электрода сравнения (паста Ag/AgCl), полученного на полимерной подложке методом трафаретной печати. Субстратами моноаминоксидазы служили 4 %-ный раствор дофамина для инъекций (Дофамин-Ферейн, Россия) и 0,1 %-ный раствор адреналина (Берингер Ингельхайм Фарма ГмбХ и Ко, Россия). Циклические вольтамперограммы получали с помощью потенциостата-гальваностата 204N (Autolab, Нидерланды). Микрофотографии снимали с помощью атомно-силового микроскопа (АСМ) марки Solver P47H (НТ-МДТ, Россия). Отделение нерастворимых компонентов лекарственных препаратов проводили с использованием центрифуги MiniSpin (Eppendorf, Германия).

В качестве лекарственных веществ использовали амитриптилин и моклобемид (Sigma-Aldrich, США), структурные формулы которых приведены на рис. 1.

В качестве модификаторов поверхности применяли оксид графена (ГО) и многостенные углеродные нанотрубки (МУНТ-СООН), функционализированные группами СООН (Sigma-Aldrich, США). Линейные размеры МУНТ составляли от 2 – 6 до 10 – 15 нм. Для получения дисперсий ГО и МУНТ использовали раствор хитозана квалификации хч в уксусной кислоте [17, 18]. Однородность дисперсий МУНТ-СООН и ГО в уксуснокислом растворе хитозана поддерживали, используя ультразвуковую ванну с частотой 37 КГц (модель «S30H» фирмы «Elmasonic», Германия).

В работе использовали моноаминоксидазу (МАО), полученную из печени свиньи (гомогенат), с активностью 0,075 мкм/мин · мг относительно дофамина.

Разработку амперометрических моноаминоксидазных биосенсоров начинали с модификации поверхности электродов. При этом варьировали количество углеродного наноматериала (МУНТ-СООН, ГО), наносимое на рабочую поверхность электродов методом капельного испарения.

После стадии модификации на поверхность электродов наносили раствор моноаминоксидазы в уксуснокислом растворе хитозана.

Хитозан является полиэлектролитом поликатионного типа и обладает прекрасной биосовместимостью [19, 20], содержит аминогруппы, позволяющие модификаторам лучше удерживаться на поверхности электрода за счет электростатического взаимодействия NH₂-групп уксуснокислого раствора хитозана и OH-групп поверхности графитового печатного электрода.

Многостенные углеродные нанотрубки — это тубулярные 3D структуры, состоящие из большого количества свернутых графеновых листов [21]. В работе использовали МУНТ, которые содержали определенное количество функциональных карбоксильных (СООН) и карбонильных (СНО) групп. Благодаря наличию большого количества кислородсодержащих функциональных групп МУНТ могут прочно закреп-

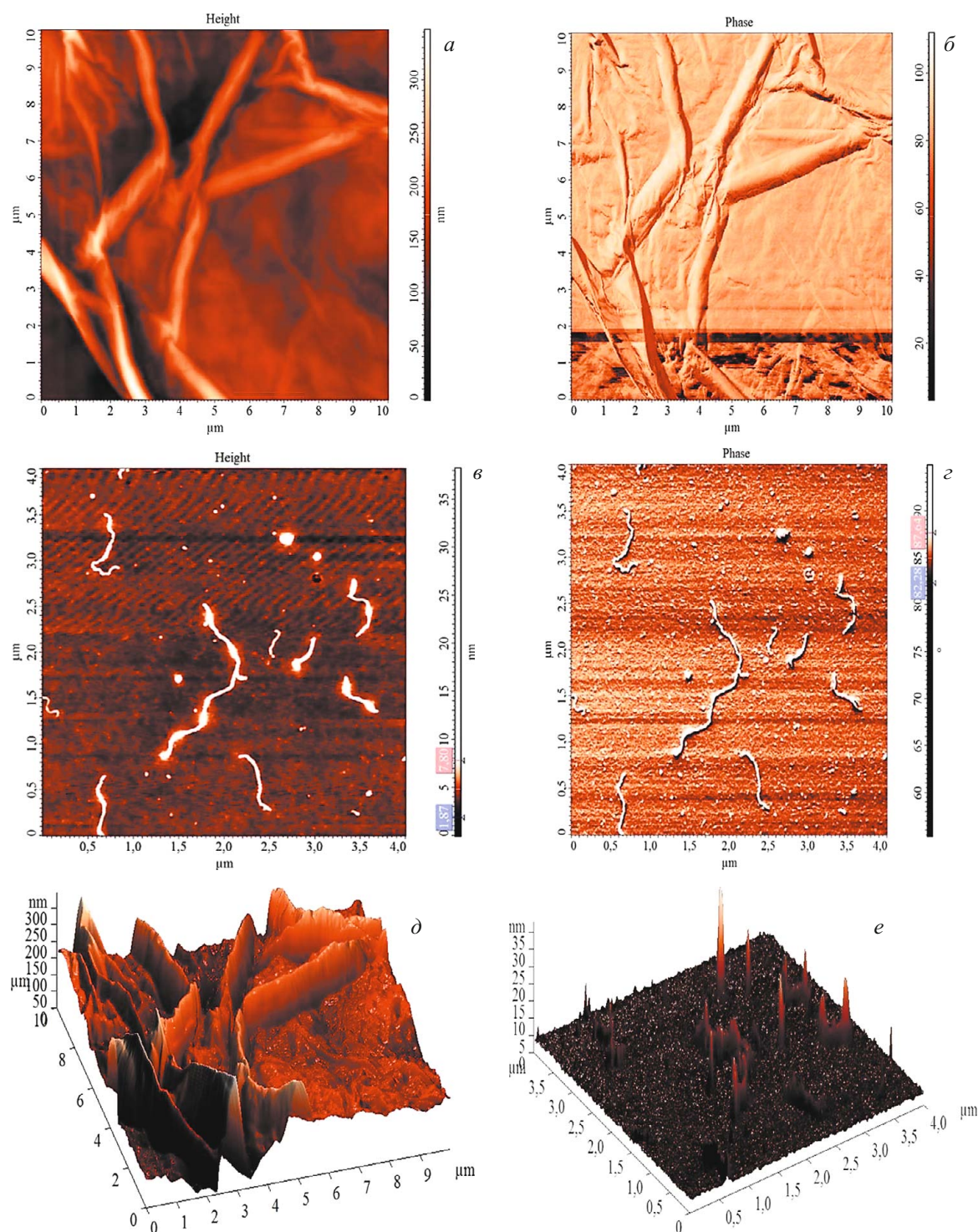


Рис. 2. АСМ изображения в режиме топографии в 2D и 3D проекциях поверхности графитового электрода, модифицированного оксидом графена (а, д), многостенными углеродными нанотрубками (в, е) и полученные методом фазового контраста (б, з)

ляться непосредственно на поверхности электрода за счет ковалентного и водородного взаимодействия ОН-групп графитовой поверхности и COOH-групп МУНТ, а также ковалентно взаимодействовать с уксуснокислым раствором хитозана за счет образования амидной связи ($-\text{CONH}-$) и электростатически через NH_2 -группы хитозана и COOH-группы МУНТ.

Оксид графена — плоский полностью окисленный графеновый 2D лист, кислородсодержащие функ-

циональные группы которого расположены на базисных плоскостях (гидроксильные и эпоксидные группы) и ребрах (карбонильные и карбоксильные) [22]. В реакциях преимущественно участвуют группы, расположенные на ребрах, а не на базисных плоскостях. ГО аналогично МУНТ-COOH может взаимодействовать как с графитовой поверхностью электрода, так и с хитозаном. При этом в отличие от МУНТ-COOH, ГО обладает намного более низкой токсичностью

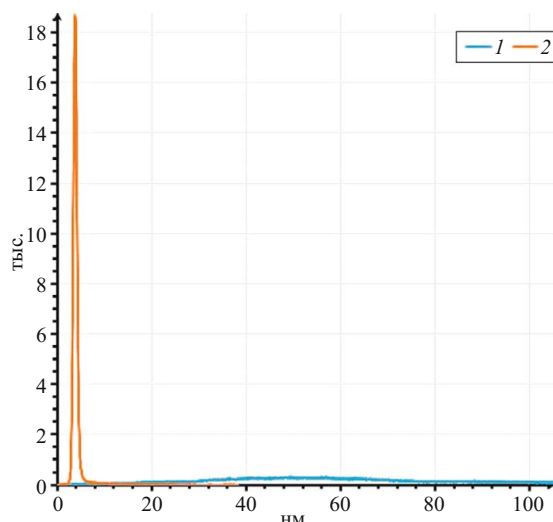


Рис. 3. Распределение частиц углеродных наноматериалов по высоте (1 — ГО, 2 — МУНТ)

по отношению к живым системам. Присутствие в МУНТ-СООН и ГО большого количества кислородсодержащих функциональных групп придает углеродным наноматериалам высокую гидрофильность и способность преимущественно растворяться в полярных растворителях. Это связано с тем, что имеет место более сильное взаимодействие заряженной за счет наличия ОН-групп поверхности рабочего электрода с полярными растворителями, т.е. модификаторы в таких растворителях прочнее удерживаются на поверхности.

Микрофотографии АСМ в режиме топографии в 2D и 3D проекциях поверхностей графитовых печатных электродов, модифицированных углеродными наноматериалами, представлены на рис. 2 наряду с микрофотографиями, полученными методом фазового контраста, которые позволяют увидеть тонкую структуру поверхности углеродных наноматериалов и оценить латеральные размеры частиц. Размер ГО составляет около 50 нм, а МУНТ — около 5 нм, что подтверждается гистограммой распределения наночастиц по размеру (рис. 3).

Изготовление биочувствительной части амперометрических биосенсоров. Для получения биочувствительной части биосенсора на поверхность рабочего электрода наносили смесь, содержащую фермент, уксуснокислый раствор хитозана, фосфатный буферный раствор (рН 7,5), и 1 %-ный водный раствор глутарового альдегида. После энергичного перемешивания на поверхность электродов наносили по 1 мкл этой смеси. Полученные таким образом биосенсоры оставляли на ночь в закрытой чашке Петри при +4 °С. На следующий день их промывали водой и после высушивания на воздухе хранили в холодильнике. Полученные биосенсоры на основе МАО сохраняли каталитиче-

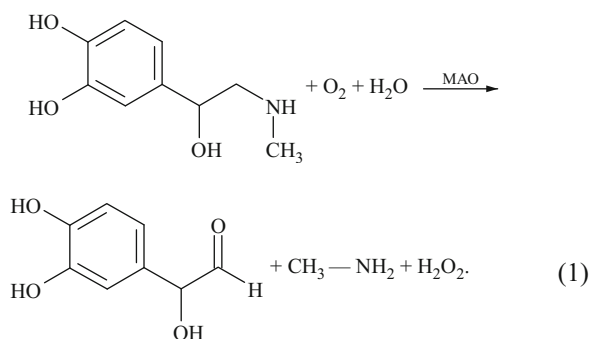
скую активность фермента в течение месяца с погрешностью не более 5–6 %.

Были рассмотрены следующие варианты биосенсоров:

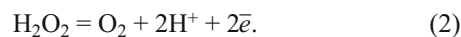
1) биосенсор на основе электродов, модифицированных дисперсией МУНТ-СООН в 0,75 %-ном растворе хитозана; максимальное значение аналитического сигнала (ток окисления пероксида водорода) наблюдается при использовании 1 мкл дисперсии МУНТ-СООН с концентрацией 1,0 мг/мл;

2) биосенсор на основе электродов, модифицированных дисперсией ГО в хитозане; максимальное значение аналитического отклика наблюдается при использовании для модификации поверхности электрода 1 мкл дисперсии ГО при его концентрации 1,8 мг/мл.

Формирование аналитического сигнала. Моноаминоксидаза относится к классу аминоксидаз [23] и катализирует реакции окислительного дезаминирования различных моноаминов, в том числе адреналина, дофамина и других (биохимическая реакция). Продуктами этой биохимической реакции дезаминирования субстратов (моноаминов) в присутствии МАО являются соответствующий альдегид, пероксид водорода и аммиак (или первичный амин в случае адреналина). Моноаминоксидазные биосенсоры (МАО-биосенсоры) основаны на сочетании биохимической реакции и соответствующей реакции электроокисления пероксида водорода:

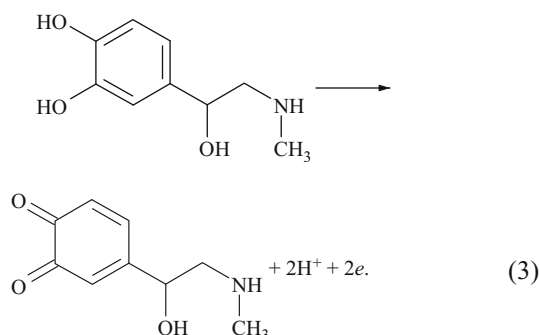


Согласно литературным данным [24] электрохимическое окисление H_2O_2 протекает по следующей схеме:



На циклических вольтамперограммах электрохимическое поведение моноаминов (адреналина и дофамина) на графитовых печатных электродах, модифицированных МУНТ-СООН, показало, что на фоне фосфатного буферного раствора с солевым фоном (0,1 М КСl) с рН 7,0 в интервале от 0 до 1 В наблюдается анодный пик (рис. 4) окисления субстратов МАО. Пик окисления, наблюдающийся в интервале от 0,15 до 0,25 В (адреналин, дофамин соответственно), связан с особенностями структуры данных соединений (возможность хинон-хиноидной перегруппировки).

Электрохимическое окисление адреналина происходит по схеме



В диапазоне потенциалов 0,7 – 0,75 В наблюдается дополнительный пик, который можно отнести к процессу окисления пероксида водорода. Величина этого пика зависит от количества выделившегося при ферментативной реакции пероксида водорода и, соответственно, концентрации антидепрессанта. Поэтому в качестве аналитического сигнала был выбран ток окисления пероксида водорода (см. рис. 4). В присутствии антидепрессантов в области концентраций $1 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-8}$ моль/л наблюдается уменьшение каталитической активности иммобилизованной MAO, что выражается в уменьшении аналитического сигнала (см. кривую 2, рис. 4). Таким образом, ингибирующая способность рассматриваемых антидепрессантов положена в основу функционирования предлагаемых MAO-биосенсоров.

Аналитические возможности MAO-биосенсоров на основе модифицированных электродов при определении лекарственных веществ. Выбор условий, обеспечивающих получение наилучшего аналитического сигнала, показал, что для обоих типов биосенсоров наибольшая каталитическая активность ИMAO наблюдается при pH 7,0.

Полученные в рамках этой работы экспериментальные данные и результаты предыдущих исследований [25 – 27] свидетельствуют о том, что лекарствен-

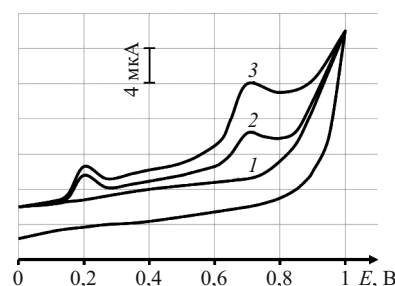


Рис. 4. Вольтамперограммы, полученные на MAO-биосенсоре первого типа: фосфатный буферный раствор pH 7,0 (1) в присутствии $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л адреналина и $1 \cdot 10^{-6}$ моль/л моклобемида (2), $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л адреналина (3)

ные препараты (антидепрессанты) оказывают ингибирующий эффект на каталитическую активность иммобилизованной MAO.

Аналитические возможности MAO-биосенсоров представлены в табл. 1. Результаты показывают, что биосенсоры первого типа (дисперсия МУНТ-СООН в хитозане) обладают наилучшими аналитическими характеристиками и имеют более высокие коэффициенты чувствительности и корреляции по сравнению с биосенсорами второго типа (табл. 1).

Для биосенсоров первого типа (табл. 2) линейная зависимость тока окисления пероксида водорода в присутствии разных субстратов MAO от концентрации нескольких типов антидепрессантов наблюдается в диапазоне от $1 \cdot 10^{-4}$ до $1 \cdot 10^{-8}$ моль/л при более низких по сравнению с биосенсорами второго типа значениях нижней границы определяемых содержаний (c_n).

Для оценки правильности результатов использовали метод «введено – найдено» (табл. 3).

Следует отметить, что использование MAO-биосенсоров позволяет проводить селективное определение моклобемида и амитриптилина в присутствии других лекарственных веществ. Было установлено, что при соотношении антидепрессант:лекарственное

Таблица 1. Аналитические возможности различных типов MAO-биосенсоров в определении моклобемида: субстрат — адреналин, $c_s = 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л ($n = 5$; $P = 0,95$)

Тип биосенсора	Интервал концентраций, моль/л	Уравнение градуировочной зависимости $I^* = (A \pm \delta) + (B \pm \delta) \lg C$			c_n , моль/л
		($A \pm \delta$)	($B \pm \delta$)	r	
1	$1 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-8}$	$(8,2 \pm 0,5)$	$(24,8 \pm 0,9)$	0,9981	$6 \cdot 10^{-9}$
2	$1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-8}$	$(7,8 \pm 0,6)$	$(10,4 \pm 0,7)$	0,9826	$9 \cdot 10^{-9}$

Примечание. $*I = (I_1/I_0) \cdot 100\%$, где I_1 — аналитический сигнал (ток) в присутствии ингибитора; I_0 — ток в отсутствие ингибитора.

Таблица 2. Аналитические возможности биосенсора первого типа в определении ингибиторов MAO в диапазоне $1 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-8}$ моль/л; концентрация субстрата $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л ($n = 5$; $P = 0,95$)

Лекарственное вещество/субстрат	Уравнение градуировочной зависимости $I^* = (A \pm \delta) + (B \pm \delta) \lg C$			c_n , моль/л
	($A \pm \delta$)	($B \pm \delta$)	r	
Моклобемид/дофамин	$(5,4 \pm 0,5)$	$(16,9 \pm 0,9)$	0,9956	$5 \cdot 10^{-9}$
Амитриптилин/адреналин	$(7,3 \pm 0,6)$	$(23,1 \pm 0,8)$	0,9987	$7 \cdot 10^{-9}$
Амитриптилин/дофамин	$(9,4 \pm 0,8)$	$(35,3 \pm 0,7)$	0,9962	$8 \cdot 10^{-9}$

Таблица 3. Результаты определения лекарственных веществ амперометрическим биосенсором первого типа ($n = 5$; $P = 0,95$)

Лекарственное вещество/субстрат	Введено, моль/л	Найдено, моль/л	S_r
Моклобемид/адреналин	$5 \cdot 10^{-8}$	$(4,8 \pm 0,3) \cdot 10^{-8}$	0,065
	$1 \cdot 10^{-7}$	$(1,15 \pm 0,07) \cdot 10^{-7}$	0,063
Моклобемид/дофамин	$5 \cdot 10^{-8}$	$(5,2 \pm 0,4) \cdot 10^{-8}$	0,075
	$1 \cdot 10^{-7}$	$(0,88 \pm 0,06) \cdot 10^{-7}$	0,070
Амитриптилин/адреналин	$5 \cdot 10^{-8}$	$(4,9 \pm 0,3) \cdot 10^{-8}$	0,065
	$1 \cdot 10^{-7}$	$(0,84 \pm 0,05) \cdot 10^{-7}$	0,061
Амитриптилин/дофамин	$5 \cdot 10^{-8}$	$(5,1 \pm 0,3) \cdot 10^{-8}$	0,070
	$1 \cdot 10^{-7}$	$(0,86 \pm 0,05) \cdot 10^{-7}$	0,061

вещество с другим терапевтическим действием (ампициллин, дибазол, но-шпа, лоратадин) 1:100 в разных диапазонах концентраций можно наблюдать изменение аналитического сигнала, характерное для действия исследуемых антидепрессантов, с погрешностью не превышающей значений, приведенных в табл. 3.

Кинетические параметры реакции ферментативного процесса в присутствии антидепрессантов. Поскольку литературные данные об ингибирующем действии моклобемида и амитриптилина на иммобилизованную МАО отсутствуют, представляло интерес определить тип ингибирования, исходя из характеристических кинетических параметров ферментативной реакции (кажущейся константы Михаэлиса — $K_{m(\text{каж})}$, максимальной скорости ферментативной реакции — V_{max}). Это может дать более полное представление о процессах, происходящих при взаимодействии антидепрессантов с МАО, и обеспечить выбор условий получения максимального аналитического сигнала при определении микроколичеств ингибиторов МАО (лекарственных веществ).

Оценка реакционной способности ингибитора по отношению к ИМАО на примере амитриптилина и моклобемида в фермент-субстратной системе МАО — дофамин представлена в табл. 4.

Значения кинетических параметров и их соотношение показывают, что для амитриптилина и моклобемида реализуется бесконкурентное ингибирование (двухпараметрически рассогласованное), характеризующееся снижением максимальной скорости реакции, но способствующее усилению связывания фермента с субстратом [28].

Константы ингибирования (K_i) вычисляли по формулам, учитывающим тип ингибирования [28]. Их значения указывают на примерно одинаковую ингибирующую способность моклобемида и амитриптилина в конкретных рассматриваемых условиях.

Определение лекарственных веществ моклобемида и амитриптилина в лекарственных формах (таблетках). Таблетку препарата растирали в ступке до однородного мелкодисперсного состояния. Добавляли небольшое количество этилового спирта (5 мл) и примерно 10 мл дистиллированной воды, перемешивали полученный раствор и центрифугировали 15 мин при скорости 7000 мин^{-1} . Получившийся прозрачный раствор переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл. Оставшийся осадок обрабатывали 10 мл дистиллированной воды и еще раз центрифугировали при тех же условиях. Прозрачный раствор добавляли в ту же мерную колбу (25 мл) и доводили водой до метки. Пробоподготовку проводили с учетом последующих измерений биосенсорами в режиме вольтамперометрии.

Из этого раствора брали аликвоту 5 мкл, добавляли 67 мкл раствора дофамина ($1 \cdot 10^{-3}$ моль/л) и фосфатный буферный раствор до объема 2 мл (объем электрохимической ячейки). В электрохимическую ячейку помещали МАО-биосенсор, и через 10 мин снимали вольтамперограмму в области потенциалов от 0 до 1 В при скорости наложения потенциала 100 мВ/с. Измеряли величину тока пика при потенциале 0,75 В, концентрацию соответствующего лекарственного препарата находили по градуировочному графику для биосенсора первого типа. Согласно полученным данным, представленным в табл. 5, погреш-

Таблица 4. Кинетические параметры окислительного дезаминирования дофамина ($1 \cdot 10^{-3}$ моль/л) в присутствии ИМАО и лекарственных веществ ($n = 5$; $P = 0,95$)

Лекарственное вещество	Концентрация, моль/л	$K_{m(\text{каж})} \cdot 10^5$, моль/л	$V_{\text{max}} \cdot 10^7$, моль/л · с	Соотношение параметров K_m и V_{max}	K_i , моль $^{-1}$
Моклобемид	0	$(5,8 \pm 0,5)$	$(4,2 \pm 0,3)$	$K'_m < K_m$	$(2,6 \pm) \cdot 10^{-7}$
	10^{-6}	$(2,9 \pm 0,2)$	$(1,6 \pm 0,1)$	$V'_{\text{max}} < V_{\text{max}}$	
	10^{-7}	$(3,4 \pm 0,3)$	$(2,9 \pm 0,2)$		
Амитриптилин	10^{-6}	$(2,7 \pm 0,2)$	$(1,9 \pm 0,1)$	$K'_m < K_m$	$(3,7 \pm) \cdot 10^{-7}$
	10^{-7}	$(4,9 \pm 0,4)$	$(3,2 \pm 0,3)$	$V'_{\text{max}} < V_{\text{max}}$	

Таблица 5. Результаты определения лекарственных веществ в лекарственных формах с помощью МАО-биосенсора первого типа ($n = 5$; $P = 0,95$)

Лекарственный препарат (таблетки)	Нормируемое содержание, мг	Найдено, мг	s_r
Амитриптилин (Зентива а.с., Словацкая Республика)	(25 ± 1)	$(25,8 \pm 0,9)$	0,041
Аурорикс (ООО «Ф. Хоффман-Ля Рош», Швейцария)	(15 ± 1)	$(15,6 \pm 0,8)$	0,053

ность (S_r) определения соответствующих лекарственных веществ в лекарственных препаратах «Аурикс», «Амитриптилин» составляет не более 0,053.

Таким образом, применение для модифицирования поверхности электродов углеродных наноматериалов (МУНТ-СООН, ГО) в виде дисперсий в уксуснокислом растворе хитозана обеспечило прочное связывание модификаторов с поверхностью печатных графитовых электродов за счет дополнительных водородных взаимодействий.

Наличие наночастиц углеродных модификаторов подтверждено микрофотографиями АСМ. Исходя из гистограммы распределения частиц по размерам МУНТ примерно в 10 раз меньше, чем ГО, что является одним из факторов повышения эффективности действия наноструктурированных модификаторов.

Наилучшие аналитические характеристики биосенсоров обеспечивает использование в качестве модификатора МУНТ-СООН (биосенсор первого). При этом наблюдается более широкий диапазон определяемых концентраций ($1 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-8}$ моль/л) по сравнению с биосенсорами второго типа и больший коэффициент чувствительности при c_n на уровне $(5 - 8) \cdot 10^{-9}$ моль/л.

Предложенные биосенсоры применены для определения лекарственных веществ в лекарственных препаратах «Аурикс» и «Амитриптилин» с погрешностью не более 0,053.

ЛИТЕРАТУРА

1. Deepakumari H. N., Vinay K. B., Revanasiddappa H. D. Development and Validation of a Stability Indicating RP-UPLC Method for Analysis of Imipramine Hydrochloride in Pharmaceuticals / Anal. Chem. 2013. Vol. 2013. P. 1 – 10.
2. Fernandez-Navarro J. J., Ruiz-Angel M. J., García-Alvarez-Coque M. C. Reversed-phase liquid chromatography without organic solvent for determination of tricyclic antidepressants / J. Sep. Sci. 2012. Vol. 35. P. 1303 – 1309.
3. Davarani S., Najarian A., Nojavan S. M. Electromembrane extraction combined with gas chromatography for quantification of tricyclic antidepressants in human body fluids / Anal. Chim. Acta. 2012. Vol. 725. P. 51 – 56.
4. Ulu S. T. Determination of tianeptine in human plasma using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection / J. Chromatogr. B. 2006. Vol. 834. P. 62 – 67.
5. Liu J. et al. Molecularly engineered graphene surfaces for sensing applications: A review / Anal. Chim. Acta. 2015. Vol. 859. P. 1 – 19.
6. Sheng M. et al. Carbon nanodots-chitosan composite film: A platform for protein immobilization, direct electrochemistry and bioelectrocatalysis / Biosens. Bioelectron. 2014. Vol. 58. P. 351 – 358.
7. Lynam C. et al. Carbon nanotube-based transducers for immunoassays / Carbon. 2009. Vol. 47. P. 2337 – 2343.
8. Palanisamy S., Cheemalapati S., Chen S.-M. Amperometric glucose biosensor based on glucose oxidase dispersed in multi-walled carbon nanotubes/graphene oxide hybrid biocomposite / Mater. Sci. Eng. C. 2014. Vol. 34. P. 207 – 213.
9. Yang N. et al. Carbon nanotube based biosensors / Sens. Actuators. B. 2014. P. 1 – 77.
10. Punbusayakul N. Carbon nanotubes architectures in electroanalysis / Procedia Eng. 2012. Vol. 32. P. 683 – 689.
11. Yang Z. et al. A streptavidin functionalized graphene oxide/Au nanoparticles composite for the construction of sensitive chemiluminescent immunosensor / Anal. Chim. Acta. 2014. Vol. 839. P. 67 – 73.
12. Veerapandian M. et al. Metalloid polymer nanoparticle functionalized graphene oxide working electrode for durable glucose sensing / Mater. Res. Bull. 2014. Vol. 49. P. 593 – 600.
13. Park J. Y., Kim S. Preparation and electroactivity of polymer functionalized graphene oxide-supported platinum nanoparticles catalysts / Int. J. Hydrogen Energy. 2013. Vol. 38. P. 6275 – 6282.
14. Yan P. et al. Ultrasensitive detection of clenbuterol by quantum dots based electrochemiluminescent immunosensor using gold nanoparticles as substrate and electron transport accelerator / Sens. Actuators B. 2014. Vol. 191. P. 508 – 515.
15. Wang S. et al. Development of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of neomycin residues in pig muscle, chicken muscle, egg, fish, milk and kidney / Meat Sci. 2009. Vol. 82. P. 53 – 58.
16. Машковский М. Д. Лекарственные средства. Т. 1. — М.: Новая Волна, 2002. — 540 с.
17. He L. et al. Chitosan/graphene oxide nanocomposite films with enhanced interfacial interaction and their electrochemical applications / Appl. Surf. Sci. 2014. Vol. 314. P. 510 – 515.
18. Shieh Y.-T., Yang Y.-F. Significant improvements in mechanical property and water stability of chitosan by carbon nanotubes / Eur. Polym. J. 2006. Vol. 42. P. 3162 – 3170.
19. Shukla S. K. et al. Chitosan-based nanomaterials: A state-of-the-art review / Int. J. Biol. Macromol. 2013. Vol. 59. P. 46 – 58.
20. Li X.-B., Jiang X.-Y. Electrostatic layer-by-layer assembled multilayer films of chitosan and carbon nanotubes / New Carbon Mat. 2010. Vol. 25. N 3. P. 237 – 240.
21. Feng W., Ji P. Enzymes immobilized on carbon nanotubes / Biotechnol. Adv. 2011. Vol. 29. P. 889 – 895.
22. Martín A., Escarpa A. Graphene: The cutting-edge interaction between chemistry and electrochemistry / Trends Anal. Chem. 2014. Vol. 56. P. 13 – 26.
23. Горкин В. З. Аминоксидазы и их значение в медицине. — М.: Медицина, 1981. — 336 с.
24. Кулис Ю. Ю. Аналитические системы на основе иммобилизованных ферментов. — Вильнюс: Мокслас, 1981. — 55 с.
25. Медянцева Э. П. и др. Определение антидепрессантов амперометрическими моноаминоксидными биосенсорами на основе графитовых печатных электродов, модифицированных многостенными углеродными нанотрубками / Химико-фармацевтический журнал. 2014. Т. 48. № 7. С. 52 – 56.
26. Медянцева Э. П. и др. Определение лекарственных препаратов строгого учета амперометрическими моноаминоксидными биосенсорами / Бутлеровские сообщения. 2014. Т. 37. № 3. С. 105 – 112.
27. Брусницын Д. В. и др. Амперометрическое определение антидепрессантов моноаминоксидными биосенсорами на основе углеродных нанотрубок и наночастиц серебра как химических модификаторов / Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2014. Т. 156. Кн. 2. С. 37 – 50.
28. Крупянюк В. И. Векторный метод представления ферментативных реакций. — М.: Наука, 1990. — 144 с.