

## Определение 4-аминофенола в фармацевтических препаратах с помощью проточного пьезокварцевого иммуносенсора

*Воронежцева Ольга Вячеславовна, Дергунова Елена Сергеевна*  
студент, аспирант

*Липецкий государственный технический университет,  
металлургический факультет, г. Липецк, Россия*

*E-mail: [ermolaeva@stu.lipetsk.ru](mailto:ermolaeva@stu.lipetsk.ru)*

В фармацевтических препаратах на основе парацетамола присутствует в качестве примеси 4-аминофенол (**4-AP**), использующийся при синтезе и накапливающийся в лекарственных формах при нарушении условий и сроков хранения. При превышении безопасных концентраций (0,01% - Россия, 0,005% - Великобритания, США, Япония) 4-аминофенол вызывает заболевания кожных покровов, глаз, нарушает работу печени.

Для определения 4-аминофенола Государственная фармакопея (XI изд.) рекомендует титриметрический метод, не позволяющий обнаруживать концентрации 4-аминофенола ниже 0,01 %. Известные инструментальные методы анализа, такие как спектрофотометрия и ВЭЖХ требуют дополнительной пробоподготовки, длительны и трудоемки.

Предложен иммуносенсор на основе пьезокварцевого резонатора, чувствительного к изменению массы, и специфических иммунореагентов, иммобилизованных на поверхности его электродов, для прямого экспрессного определения 4-аминофенола в фармацевтических препаратах. Аналитическим сигналом сенсора служит изменение частоты колебаний ( $\Delta f$ , Гц) при увеличении массы биорецепторного покрытия за счет образования поверхностного иммунного комплекса. Исследования проводились на установке для проточно-инжекционного анализа. Ячейка детектирования объемом 20 мкл обеспечивала контакт анализируемой пробой только с одной стороной пьезокварцевого иммуносенсора.

Иммобилизация 4-аминофенол-белкового конъюгата (**4-AP-GA-BSA**) на предварительно силанизированной поверхности серебряного электрода резонатора позволяет достичь высокой поверхностной концентрации активных центров связывания и максимального значения аналитического сигнала.

Рассчитаны константы скорости прямой и обратной реакции, константы связывания антител с гаптен-белковым конъюгатом ( $K_{св}$ ). Показано, что максимальную активность проявляют поликлональные антитела **Myg-3 (22.08.00)** с  $K_{св}$  равной  $25,7 * 10^9$  моль<sup>-1</sup>·л. Установлена рабочая концентрация специфичных антител **Myg-3 (22.08.00)** - 50 мкг/мл, соответствующая 50 % связыванию антител с гаптен-белковым конъюгатом. Оптимизированы режимы (рН и скорость раствора-носителя, природа и концентрация регенерирующего раствора) проточно-инжекционного определения 4-аминофенола с помощью пьезокварцевого иммуносенсора.

Разработана методика определения 4-аминофенола в фармацевтических препаратах в конкурентном формате. Аналитический сигнал сенсора обратно пропорционален концентрации аналита в пробе. Градуировочный график линейен в диапазоне концентраций 2 – 120 нг/мл, предел обнаружения 4-аминофенола - 1,1 нг/мл. Правильность способа определения 4-аминофенола проверена методом «введено-найдено». Время единичного определения не превышает 3 мин.

Сенсор апробирован при определении 4-аминофенола в препаратах отечественных и зарубежных производителей, содержащих парацетамол («ColdrexHotRem», «Цитрамон-П», «Парацетамол-Н.С.», «Аскофен-П», «Парацетамол» и др.). Установлено что содержание 4-аминофенола в лекарственных формах не превышает допустимые концентрации (0,0003-0,007%).

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и администрации Липецкой области (грант № 06-03-96339\_р\_центр\_а).*