

АМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЕ ИММУНОСЕНСОРЫ НА ОСНОВЕ УГЛЕРОДНЫХ НАНОМАТЕРИАЛОВ И КЛАСТЕРОВ РЕНИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТРИЦИКЛИЧЕСКИХ АНТИДЕПРЕССАНТОВ В ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОЙ ИНЖЕКЦИОННОЙ СИСТЕМЕ

***Э.П. Медянцева¹, Э.Р. Газизуллина¹, Д.В. Брусницын¹, А.Б. Добрынин^{2,3},
К.А. Брылев⁴, А.Р. Мустафина², Ю.Г. Елистратова²**

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Химический институт
им. А.М. Бутлерова

Россия, 420008, Казань, ул. Кремлевская, д. 18

²Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова,
Федеральный исследовательский центр Казанский научный центр Российской академии наук
Россия, 420088, Казань, ул. Ак. Арбузова, д. 8

³Казанский национальный исследовательский технический университет
им. А.Н. Туполева–КАИ

Россия, 420111, Казань, ул. К. Маркса, 10

⁴Институт неорганической химии им. А.В. Николаева
Сибирского отделения Российской академии наук

Россия, 630090, Новосибирск, Проспект Ак. Лаврентьева, 3

*Адрес для переписки: Медянцева Эльвина Павловна, e-mail: emedyant@gmail.com

Поступила в редакцию 17 октября 2022 г., после доработки – 06 февраля 2023 г.

Предложен способ последовательного инъекционного определения трициклических антидепрессантов (амитриптилин, дезипрамин, имипрамин) с использованием амперометрических иммуносенсоров на основе печатных графитовых электродов, модифицированных углеродными наноматериалами (углеродные нанотрубки, оксид графена или фуллерен) в сочетании с гексарениевыми халькогенидными кластерами. Последовательный инъекционный анализ проводили при скорости развертки 10 мВ/с, также варьировали скорость потока (фоновый электролит - фосфатный буферный раствор с pH 7.0) от 20 до 40 мкл/с. Состав модификатора оказывает влияние на аналитические возможности иммуносенсоров. Скрининг различных вариантов модификаторов показал, что наибольшая чувствительность 23.9 ± 0.9 с диапазоном рабочих концентраций $1 \cdot 10^{-10} - 1 \cdot 10^{-5}$ М характерна для иммуносенсора на основе оксида графена и цианидных комплексов халькогенидных кластеров рения, а более широкая область определяемых содержаний $1 \cdot 10^{-10} - 1 \cdot 10^{-4}$ М наблюдается в случае иммуносенсора на основе фуллерена и цианидных комплексов халькогенидных кластеров рения. Нижняя граница определяемых содержаний находится на уровне $(4 - 7) \cdot 10^{-11}$ М.

Относительное стандартное отклонение повторяемости (S_r) не более 0.046. Полученные результаты показывают, что предлагаемые иммуносенсоры могут найти применение в последовательном инъекционном определении следовых содержаний лекарственных соединений (антидепрессантов) в медико-биологических объектах.

Ключевые слова: иммуносенсор, углеродные наноматериалы, гексарениевые халькогенидные кластеры, трициклические антидепрессанты, последовательный инъекционный анализ

AMPEROMETRIC IMMUNOSENSORS BASED ON CARBON NANOMATERIALS AND RHENIUM CLUSTERS FOR THE DETERMINATION OF TRICYCLIC ANTIDEPRESSANTS IN A SEQUENTIAL INJECTION SYSTEM

***E.P. Medyantseva¹, E.R. Gazizullina¹, D.V. Brusnitsyn¹, A.B. Dobrynin^{2,3},
K.A. Brylev⁴, A.R. Mustafina², J.G. Elistratova²**

¹*A.M. Butlerov Institute of Chemistry, Kazan (Volga region) Federal University
Kremlevskaya str., 18, Kazan, 420008, Russian Federation*

²*Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry,
FRC Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences
Ac. Arbuzova str., 8, Kazan, 420088, Russian Federation*

³*Institute of Radio Electronics, Photonics and Digital Technologies,
Kazan National Research Technical University
Karl Marx str, 10, Kazan, 420111, Russian Federation*

⁴*A.V. Nikolaev Institute of Inorganic Chemistry, the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
Ac. Lavrentiev Prosp., 3, Novosibirsk, Russian Federation*

*Corresponding author: Elvina P. Medyantseva, e-mail: emedyant@gmail.com

Submitted 17 October 2022, received in revised form 06 February 2023

A method of sequential injection determination of tricyclic antidepressants (amitriptyline, desipramine, imipramine) using amperometric immunosensors based on screen-printed graphite electrodes modified by carbon nanomaterials (carbon nanotubes, graphene oxide or fullerene) in combination with hexarhenium chalcogenide clusters is proposed. Sequential injection analysis was performed at a sweep rate of 10 mV/s; the flow rate (supporting electrolyte – phosphate buffer solution with pH 7.0) was also varied from 20 to 40 μ l/s. Composition of the modifier affects the analytical capability of immunosensors. Screening of various types of modifiers showed that the immunosensor based on graphene oxide and cyanide complexes of rhenium chalcogenide clusters exhibited the highest sensitivity of 23.9 ± 0.9 with a range of working concentrations of $1 \cdot 10^{-10}$ – $1 \cdot 10^{-5}$ M, and even wider range of detectable concentrations, $1 \cdot 10^{-10}$ – $1 \cdot 10^{-4}$ M was observed for the immunosensor based on fullerene and cyanide complexes of rhenium chalcogenide clusters. The lowest limit of the determined contents was $(4-7) \cdot 10^{-11}$ M. Relative standard deviation of repeatability (S_r) did not exceed 0.046. The results obtained show that the proposed immunosensors can be used in sequential injection determination of trace amounts of medicinal compounds (antidepressants) in biomedical objects.

Keywords: immunosensor, carbon nanomaterials, hexarhenium chalcogenide clusters, tricyclic antidepressants, sequential injection analysis

ВВЕДЕНИЕ

Продолжительное влияние неконтролируемых стресс-факторов приводит к развитию депрессии, несвоевременное лечение которой влечет за собой серьезные последствия [1]. Прежде всего, при лечении психических расстройств такого рода назначают антидепрессанты, способные устранить дефицит биогенных аминов (серотонина, норадреналина, дофамина и др.) в синаптических щелях центральной нервной системы путем ингибирования активности ферментов, блокирования их обратного нейронального захвата или увеличения числа высвобождаемых нейромедиаторов от участков пресинаптических нервных окончаний [2, 3].

Трициклические антидепрессанты (амитриптилин, дезипрамин, доксепин, имипрамин, кломипра-

мин, протриптилин и др.) относят к лекарственным препаратам первого поколения. Назначаются они в основном при продолжительных и тяжелых формах депрессий, обладают хорошим и быстрым антидепрессивным действием, дешевы. Эффективны при депрессиях с болевыми синдромами, поскольку проявляют обезболивающее действие. Таким образом, применение трициклических антидепрессантов, например, при лечении депрессий, возникающих на фоне онкологических заболеваний, снижает потребность в наркотических анальгетиках [4].

Для определения содержания лекарственных соединений в биологических объектах требуются высокочувствительные, селективные и несложные методы. Такими преимуществами обладают пьезоэлектрические [5, 6] и электрохимические иммуносенсоры [7, 8]. Для совершенствования ана-

литических характеристик необходима модификация поверхности сенсора различными структурированными материалами, которые способны обеспечить достаточно воспроизводимый аналитический сигнал, большую площадь поверхности, высокую электропроводность и выраженную адсорбционную способность. Чаще всего в качестве модификаторов применяют углеродные наноматериалы (углеродные нанотрубки, восстановленный оксид графена и др.) и наночастицы металлов [9 – 13]. Для более эффективного закрепления на поверхности трансдюсеров модификаторы наносят совместно с гиперразветвленными структурами (полиэфирополиолы) или дендримерами [14].

На наш взгляд целесообразно использовать гибридные модификаторы, то есть сочетания углеродных материалов и электрохимически активных гексарениевых халькогенидных кластеров в составе амперометрических иммуносенсоров для регистрации иммунохимического взаимодействия между антителом и антигеном [15]. Необходимо отметить, что гексарениевые халькогенидные кластеры ранее для этих целей не использовали, а также не применяли их комбинации с углеродными материалами при составлении гибридных модификаторов.

При экспресс-анализе большого количества образцов эффективны проточные методы, обеспечивающие высокую степень автоматизации [16 – 19]. Проточные анализаторы обладают такими преимуществами, как высокая производительность, минимальный расход пробы, простота использования. Последние достижения в области последовательного инъекционного определения лекарственных соединений с использованием электрохимических сенсоров представлены в обзорной статье [20].

Цель исследования заключалась в разработке последовательного инъекционного способа определения трициклических антидепрессантов (амитриптилин, дезипрамин, имипрамин) с использованием амперометрических иммуносенсоров на основе печатных графитовых электродов, модифицированных углеродными наноматериалами (углеродные нанотрубки, оксид графена или фуллерен) в сочетании с гексарениевыми халькогенидными кластерами.

Новизна работы состоит в том, что иммуносенсоры с рассматриваемыми гибридными модификаторами в режиме последовательного инъекционного анализа ранее не использовали.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Оборудование

Основу иммуносенсора составляет печатный графитовый электрод. С более подробной информацией по этому вопросу можно ознакомиться в статье [9].

Для электрохимических измерений применяли потенциостат\гальваностат 204N с модулем

FRA32M (Autolab, Нидерланды). Измерения в потоке проводили с помощью последовательного инъекционного анализатора «Fialab's microSIA» (FIALab Instruments, США).

Ультразвуковая ванна с частотой 37 КГц (модель S30H, Elmasonic, Германия) дает возможность получать устойчивые дисперсии наноматериалов.

Микрофотографии получены на сканирующем электронном микроскопе HITACHI TM-1000 (Япония).

Материалы и реактивы

Фосфатные буферные растворы (KH_2PO_4 , Na_2HPO_4) с pH 7.0 и 7.5 готовили из реагентов х. ч. и ч. (Реахим, Россия).

Водные растворы кластерных комплексов рения ($1 \cdot 10^{-3}$ М) $\text{K}_4\{[\text{Re}_6\text{S}_8](\text{OH})_6\} \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ и $\text{K}_4\{[\text{Re}_6\text{S}_8](\text{CN})_6\} \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ [21, 22], предоставленные лабораторией «Синтез кластерных соединений и материалов» Института неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН, применяли в качестве электрохимической метки.

Углеродные наноматериалы (углеродные нанотрубки УНТ, фуллерен C_{60} и водная дисперсия оксида графена ГО (1 мг/мл) (Sigma Aldrich, США)) диспергировали в аминопроизводном на платформе полиэфирополиола второй генерации ($\text{H}_2\text{O}-\text{NH}_2$) (модифицированы на кафедре неорганической химии КФУ) и хитозане (Sigma Aldrich, США), раствор которого готовили в 2 % (v/v) уксусной кислоте марки х. ч. (Реахим, Россия). Диспергирование в $\text{H}_2\text{O}-\text{NH}_2$ и хитозане способствует более эффективному закреплению модификаторов на поверхности электродов за счет межмолекулярных взаимодействий.

Иммобилизацию поликлональных антител против трициклических антидепрессантов (MicroPharm Ltd (Великобритания) (разведение 1 : 10) проводили аналогично работе [23].

Объекты анализа: трициклические антидепрессанты амитриптилин, дезипрамин, имипрамин (Sigma Aldrich, США). Серию стандартных растворов лекарственных соединений готовили по точно взятой навеске с минимальным количеством разбавлений в диапазоне концентраций от 10^{-10} до 10^{-4} М.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Модификация поверхности печатных графитовых электродов композитными материалами и биочувствительным компонентом

Для модификации печатных графитовых электродов использовали электрохимически активные гексарениевые кластеры, с помощью которых можно регистрировать иммунохимические взаимодействия, протекающие в ячейке. Для усиления тока окисления кластеров и адсорбции их на рабочей поверхности наносили эти компоненты совместно с перспективными и в тоже время доступными углеродными наноматериалами [15], имеющими

развитую поверхность и пористость, высокую химическую инертность и электропроводность.

Рассмотрены аналитические возможности различных вариантов модификаторов, которые послойно наносили на поверхность электродов и которые послужили основой для соответствующих иммуносенсоров (представлены в табл.1).

На поверхность электрода послойно наносили: (1) дисперсию УНТ в хитозане (2 мг/мл) и $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ (10^{-3} М); (2) дисперсию УНТ в H_2O-NH_2 (1 мг/мл) и $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ (10^{-3} М); (3) дисперсию ГО в H_2O-NH_2 (0.3 мг/мл) и $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ (10^{-3} М); (4) дисперсию ГО в H_2O-NH_2 (0.5 мг/мл) и $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ (10^{-3} М); (5) дисперсию C_{60} в H_2O-NH_2 (1.5 мг/мл) и $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ (10^{-3} М); (6) дисперсию C_{60} в H_2O-NH_2 (2 мг/мл) и $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ (10^{-3} М). После чего наносили смесь для иммобилизации, содержащую антитела против трициклических антидепрессантов.

Определение констант аффинности иммунных комплексов

В основе иммунохимических методов анализа лежит взаимодействие антитела с антигеном, которое характеризуется специфичностью и высокой чувствительностью. Для оценки свойств антител и возможности применения иммунохимической реакции в аналитических целях, в том числе и при разработке иммуносенсорных устройств, применяют параметр, называемый константой образования иммунных комплексов антиген-антитело или константой аффинности (K_a) [24, 25].

Одним из способов нахождения констант аффинности иммунных комплексов является метод Скэтчарда, основанный на графической обработке данных, полученных проведением серии опытов по определению концентрации свободного и связанного

Таблица 1

Аналитические возможности иммуносенсоров при определении антидепрессантов в режиме последовательного инъекционного анализа ($n = 5$; $P = 0.95$)

Table 1

Analytical capability of immunosensors in determination of antidepressants using regime of sequential injection analysis ($n = 5$; $P = 0.95$)

Антидепрессант	Область рабочих концентраций и $c_{н,}$ М	Градуировочная зависимость $I^* = (A \pm \delta) + (B \pm \delta) \cdot (-\lg C)$		
		(A ± δ)	(B ± δ)	r
Иммуносенсор 1 (УНТ-хитозан/ $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ /антитела)				
Амитриптилин	$1 \cdot 10^{-10} - 1 \cdot 10^{-6}$	172 ± 8	-14.4 ± 0.6	0.9996
Дезипрамин		169 ± 7	-14.1 ± 0.5	0.9994
Имипрамин		175 ± 8	-14.8 ± 0.6	0.9994
Иммуносенсор 2 (УНТ- H_2O-NH_2 / $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ /антитела)				
Амитриптилин	$1 \cdot 10^{-10} - 1 \cdot 10^{-6}$	221 ± 10	-21.0 ± 1.0	0.9997
Дезипрамин		220 ± 10	-21.0 ± 1.0	0.9993
Имипрамин		225 ± 11	-21.4 ± 1.1	0.9995
Иммуносенсор 3 (ГО- H_2O-NH_2 - $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ /антитела)				
Амитриптилин	$1 \cdot 10^{-10} - 1 \cdot 10^{-5}$	220 ± 10	-23.8 ± 0.9	0.9994
Дезипрамин		217 ± 10	-23.3 ± 0.8	0.9996
Имипрамин		220 ± 10	-23.9 ± 0.9	0.9997
Иммуносенсор 4 (ГО- H_2O-NH_2 - $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ /антитела)				
Амитриптилин	$1 \cdot 10^{-10} - 1 \cdot 10^{-5}$	188 ± 9	-18.7 ± 0.8	0.9998
Дезипрамин		182 ± 8	-18.0 ± 0.7	0.9997
Имипрамин		186 ± 8	-18.5 ± 0.7	0.9998
Иммуносенсор 5 (C_{60} - H_2O-NH_2 / $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ /антитела)				
Амитриптилин	$1 \cdot 10^{-10} - 1 \cdot 10^{-4}$	95.8 ± 3.6	-1.2 ± 0.1	0.9992
Дезипрамин		96.4 ± 3.9	-1.1 ± 0.1	0.9990
Имипрамин		96.6 ± 3.9	-1.1 ± 0.1	0.9990
Иммуносенсор 6 (C_{60} - H_2O-NH_2 / $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ /антитела)				
Амитриптилин	$1 \cdot 10^{-10} - 1 \cdot 10^{-4}$	53.0 ± 2.2	-4.6 ± 0.2	0.9992
Дезипрамин		52.9 ± 2.1	-4.3 ± 0.2	0.9993
Имипрамин		52.8 ± 2.1	-4.4 ± 0.2	0.9990

Примечание: $I^* = ((I_1 - I_2)/I_1) \cdot 100\%$, где I_1 – ток в присутствии антител, I_2 – ток при образовании иммунного комплекса антиген-антитело

антигенов при его различных начальных концентрациях и постоянной концентрации антител [26].

Для определения остаточного количества антидепрессанта (амитриптилина) использовали градуировочную зависимость $I^* = (204 \pm 11) + (-20.2 \pm 1.0) \cdot (-\lg C)$ амперометрического иммуносенсора 3 [15]. Остаточную равновесную концентрацию антигена находили путем определения количества антидепрессанта, оставшегося в растворе после образования иммунного комплекса на поверхности иммуносенсора. Для этого использовали градуировочную зависимость между током окисления цистеина и антигена, полученную с помощью амперометрического цистеиндисульфгидразного биосенсора [27].

В ячейку с определяемым антидепрессантом опускали иммуносенсор 3 (ГО-Н2О-НН₂-К₄[(Re₆S₈)(CN)₆]/антитела). Время инкубации – 5 мин. Затем иммуносенсор с образовавшимся иммунным комплексом вынимали, а в раствор помещали цистеиндисульфгидразный биосенсор. Измеряли высоту анодного пика при потенциале 544 мВ. Оставшуюся после образования иммунного комплекса концентрацию антидепрессанта определяли по градуировочному графику $I^* = (119 \pm 6) + (-12.7 \pm 0.6) \cdot (-\lg C)$.

Полученные данные использовали для построения графика в координатах Скэтчарда (см. рис. 1). Наличие двух линейных участков на кривой зависимости Скэтчарда говорит о присутствии двух субпопуляций антител с различным сродством к определяемому антигену: $K_{a1} = (3.7 \pm 0.2) \cdot 10^{10}$ моль⁻¹ (общая концентрация антител $A_{01} = 2.3 \cdot 10^{-6}$ М) и $K_{a2} = (4.5 \pm 0.3) \cdot 10^9$ моль⁻¹ (общая концентрация антител $A_{02} = 1.1 \cdot 10^{-5}$ М).

Несмотря на отсутствие литературных данных о прочности связывания рассматриваемых иммунологических пар, полученные значения констант образования иммунных комплексов свидетельствуют о достаточно прочном связывании амитриптилина с используемыми антителами, что позволяет

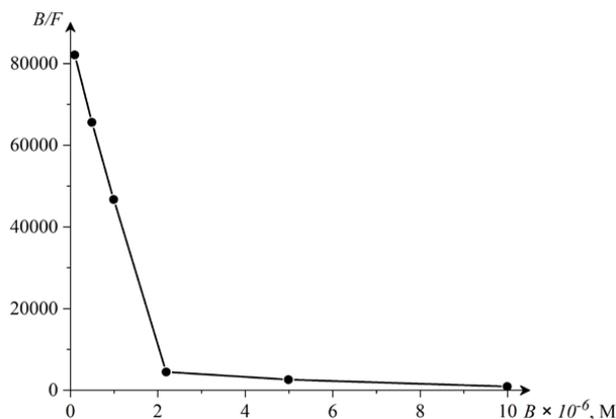


Рис. 1. График Скэтчарда для нахождения констант аффинности. Иммуносенсор 3 (ГО-Н2О-НН₂-К₄[(Re₆S₈)(CN)₆]/антитела)

Fig. 1. The Scatchard graph for determining affinity constants. Immunosensor 3 (GO-H₂O-NH₂-K₄[(Re₆S₈)(CN)₆]/antibodies)

применять разработанные иммуносенсоры для высокочувствительного и селективного определения трициклических антидепрессантов.

Сканирующая электронная микроскопия

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) позволяет получить изображения поверхности модифицированных электродов, что в дальнейшем используется для оценки аналитических характеристик разрабатываемых иммуносенсоров. Нанесение на рабочую поверхность гексарениевых халькогенидных кластеров (см. рис. 2а, 2г) характеризуется их равномерным распределением, в том числе и при совместном осаждении с углеродными наноматериалами (см. рис. 2б, 2д). Результаты, полученные методами СЭМ и атомно-силовой микроскопии [15], согласуются между собой. Сравнение СЭМ-микрофотографий, полученных до (см. рис. 2б, 2д) и после иммобилизации антител (см. рис. 2в, 2е), позволяет судить о закреплении последних на модифицированных композитными структурами печатных графитовых электродах, при этом поверхность иммуносенсора изменяется.

Последовательный инжекционный анализ

Усовершенствование проточных методов за счет унификации гидравлических систем и минимизации расхода растворов проб и реагентов способствовало развитию последовательного инжекционного анализа [28]. В удерживающую спираль перистальтическим насосом отбираются необходимые объемы фонового раствора и анализируемой пробы, которые при переключении многоходового крана подаются сначала в реакционную спираль, а затем на проточную ячейку с вольтамперметрическим детектором. Происходит автоматическая регистрация аналитического сигнала и измерение его значения.

В проточных условиях на аналитический сигнал влияние оказывают такие физические параметры системы, как, например, объем отбираемой пробы, скорость потока, длина и диаметр трубок в гидравлической схеме и другие [29, 30].

Сопоставление воспроизводимости результатов использования иммуносенсоров в стационарных и проточных условиях показывает, что проточные методы анализа обеспечивают лучшие условия обновления поверхности электрода.

Влияние скорости потока. Регистрировали дифференциальные импульсные вольтамперограммы в области потенциалов от 0.0 до 1.0 В при скорости развертки 10 мВ/с, при этом варьируя скорость потока (фосфатный буферный раствор с pH 7.0) от 20 до 40 мкл/с. Установлено, что наибольший аналитический сигнал (пик электрохимического окисления кластеров рения (1.5 мкА) при потенциале 211 мВ) наблюдается при скорости потока 25 мкл/с (см. рис. 3). При увеличении скорости потока

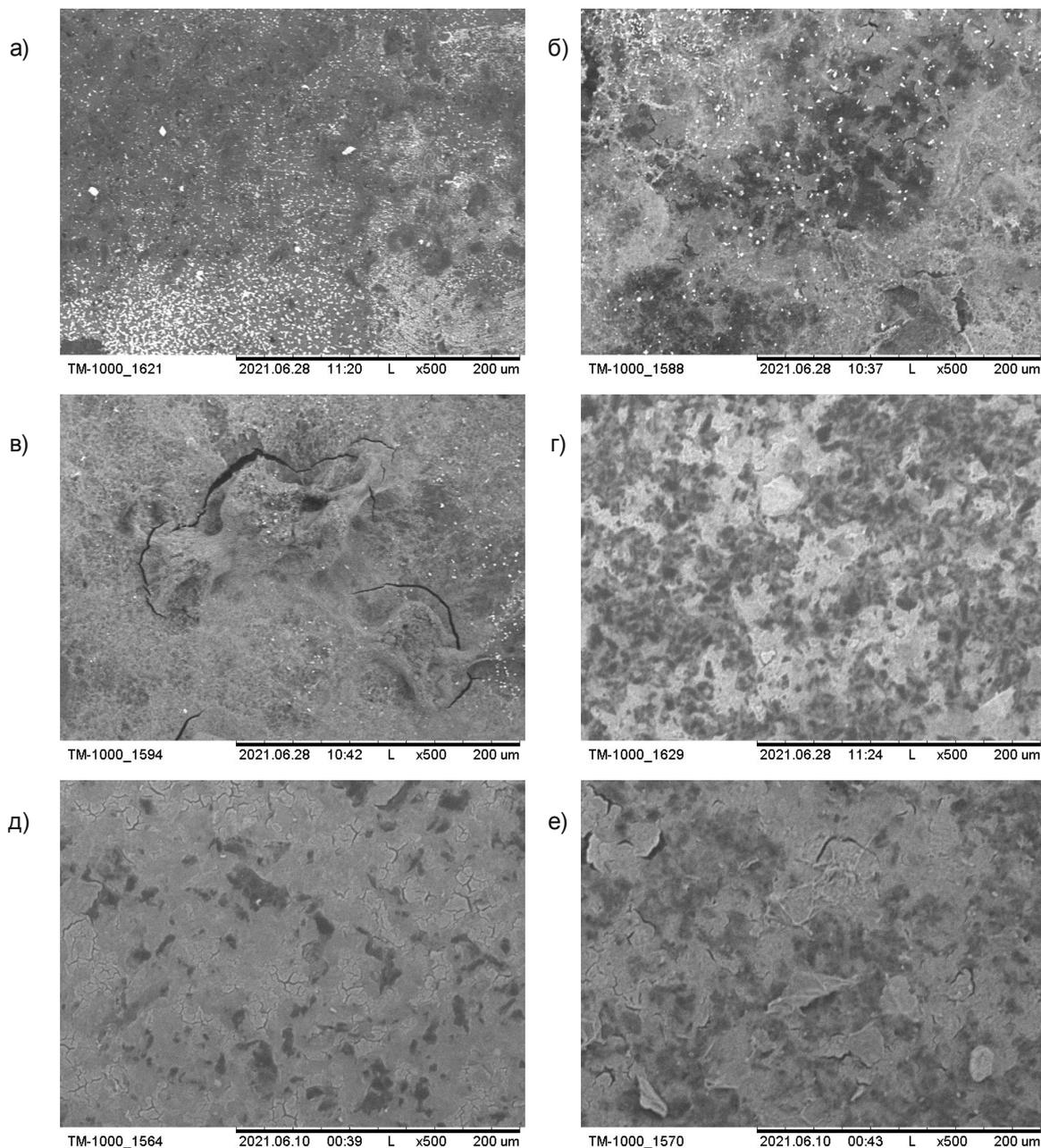


Рис. 2. СЭМ-микротографии: а - $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$; б - УНТ-хитозан/ $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$; в - УНТ-хитозан/ $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ /антитела; г - $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$; д - GO-H₂O-NH₂- $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$; е - GO-H₂O-NH₂- $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ /антитела

Fig. 2. SEM-images: a - $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$; b - CNT-chitosan/ $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$; c - CNT-chitosan/ $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ /antibodies; d - $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$; e - GO-H₂O-NH₂- $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$; f - GO-H₂O-NH₂- $K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ /antibodies

отмечается не только падение тока (до 0.6 мкА), но и смещение потенциала в сторону более высоких значений (до 463 мВ), что затрудняет протекание электрохимической реакции.

Процесс электроокисления кластеров рения является одноэлектронным [31]. Проведенные ранее исследования [15] указывают на кинетическую природу наблюдаемого тока (критерий Семерано равен 0.25). При этом осаждение антител на модифицированную поверхность приводит к незначительному уменьшению регистрируемого аналитического сигнала и практически не отражается на потенциалах регистрации аналитического сигнала.

Аналитические возможности иммуносенсоров в режиме последовательного инъекционного анализа

Регистрировали дифференциальные импульсные вольтамперограммы в области потенциалов от 0.0 до 1.0 В при скорости сканирования потенциала 10 мВ/с (см. рис. 4) на фоне фосфатного буферного раствора с pH 7.5 [15].

Взаимодействие антитела с антигеном проявляется в уменьшении аналитического сигнала и его незначительном смещении (до 30 мВ) в область

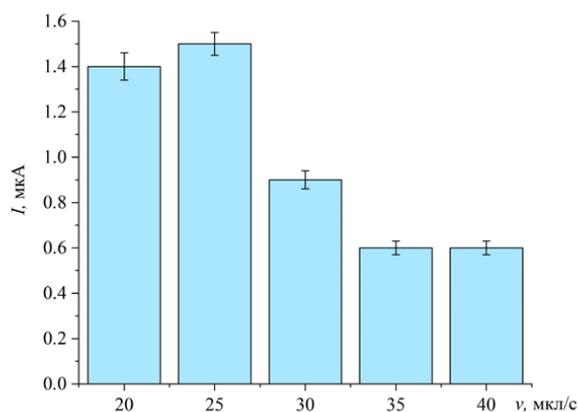


Рис. 3. Зависимость величины тока окисления кластера рения от скорости потока (фосфатный буферный раствор, pH 7.0) в последовательной инъекционной системе. Модификатор: УНТ-хитозан/ $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$

Fig. 3. The effect of the flow rate (phosphate buffer solution, pH 7.0) on oxidation current of rhenium clusters in a sequential injection system. Modifier: CNT-chitosan/ $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$

потенциалов с более высокими значениями (см. рис. 4) за счет увеличения сопротивления на границе электрод/раствор и возникновения стерических препятствий.

Наибольший коэффициент чувствительности 23.9 ± 0.9 с диапазоном рабочих концентраций $1 \cdot 10^{-10} - 1 \cdot 10^{-5}$ М характерен для иммуносенсора 3 (ГО-Н20- $NH_2-K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ /антитела) (см. табл. 1). Более широкая область определяемых содержаний $1 \cdot 10^{-10} - 1 \cdot 10^{-4}$ М с коэффициентом чувствительности 4.4 ± 0.2 наблюдается в случае иммуносенсора 6 (C_{60} -Н20- $NH_2/K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ /антитела). Нижняя

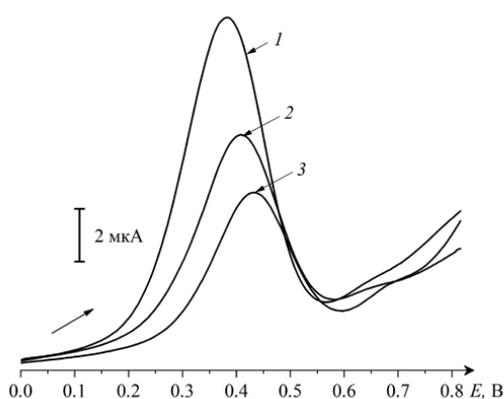


Рис. 4. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы: иммуносенсор 6 (C_{60} -Н20- $NH_2/K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ /антитела) (1); иммуносенсор 6 в присутствии $1 \cdot 10^{-8}$ М (2) и $1 \cdot 10^{-7}$ М (3) имипрамина. $V = 10$ мВ/с

Fig. 4. Differential pulse voltammograms: immunosensor 6 (C_{60} -Н20- $NH_2/K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ /antibodies) (1); immunosensor 6 in the presence of $1 \cdot 10^{-8}$ М (2) and $1 \cdot 10^{-7}$ М (3) imipramine. $V = 10$ мВ/с

Таблица 2

Результаты определения антидепрессантов иммуносенсорами в режиме последовательного инъекционного анализа ($n = 5$; $P = 0.95$)

Table 2

The results of determination of antidepressants by immunosensors using the regime of sequential injection analysis ($n = 5$; $P = 0.95$)

Антидепрессант	Введено, М	Найдено, М	S_r
Иммуносенсор 1 (УНТ-хитозан/ $K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ /антитела)			
Амитриптилин	$1 \cdot 10^{-8}$	$(1.03 \pm 0.05) \cdot 10^{-8}$	0.042
	$1 \cdot 10^{-7}$	$(1.01 \pm 0.03) \cdot 10^{-7}$	0.038
Имипрамин	$1 \cdot 10^{-8}$	$(1.04 \pm 0.05) \cdot 10^{-8}$	0.043
	$1 \cdot 10^{-7}$	$(1.01 \pm 0.03) \cdot 10^{-7}$	0.038
Иммуносенсор 2 (УНТ-Н20- $NH_2/K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ /антитела)			
Амитриптилин	$1 \cdot 10^{-8}$	$(1.04 \pm 0.05) \cdot 10^{-8}$	0.044
	$1 \cdot 10^{-7}$	$(1.01 \pm 0.04) \cdot 10^{-7}$	0.040
Дезипрамин	$1 \cdot 10^{-8}$	$(1.02 \pm 0.05) \cdot 10^{-8}$	0.046
	$1 \cdot 10^{-7}$	$(0.98 \pm 0.04) \cdot 10^{-7}$	0.041
Иммуносенсор 3 (ГО-Н20- $NH_2-K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ /антитела)			
Дезипрамин	$1 \cdot 10^{-8}$	$(1.01 \pm 0.03) \cdot 10^{-8}$	0.035
	$1 \cdot 10^{-7}$	$(1.00 \pm 0.03) \cdot 10^{-7}$	0.032
Имипрамин	$1 \cdot 10^{-8}$	$(1.01 \pm 0.03) \cdot 10^{-8}$	0.034
	$1 \cdot 10^{-7}$	$(0.99 \pm 0.02) \cdot 10^{-7}$	0.030
Иммуносенсор 4 (ГО-Н20- $NH_2-K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ /антитела)			
Амитриптилин	$1 \cdot 10^{-8}$	$(1.03 \pm 0.03) \cdot 10^{-8}$	0.038
	$1 \cdot 10^{-7}$	$(1.02 \pm 0.03) \cdot 10^{-7}$	0.036
Имипрамин	$1 \cdot 10^{-8}$	$(0.99 \pm 0.03) \cdot 10^{-8}$	0.036
	$1 \cdot 10^{-7}$	$(0.97 \pm 0.03) \cdot 10^{-7}$	0.033
Иммуносенсор 5 (C_{60} -Н20- $NH_2/K_4[Re_6S_8(OH)_6]$ /антитела)			
Дезипрамин	$1 \cdot 10^{-8}$	$(1.05 \pm 0.05) \cdot 10^{-8}$	0.045
	$1 \cdot 10^{-7}$	$(1.03 \pm 0.05) \cdot 10^{-7}$	0.043
Имипрамин	$1 \cdot 10^{-8}$	$(1.03 \pm 0.04) \cdot 10^{-8}$	0.042
	$1 \cdot 10^{-7}$	$(1.01 \pm 0.04) \cdot 10^{-7}$	0.039
Иммуносенсор 6 (C_{60} -Н20- $NH_2/K_4[Re_6S_8(CN)_6]$ /антитела)			
Амитриптилин	$1 \cdot 10^{-8}$	$(1.02 \pm 0.04) \cdot 10^{-8}$	0.041
	$1 \cdot 10^{-7}$	$(0.98 \pm 0.04) \cdot 10^{-7}$	0.037
Дезипрамин	$1 \cdot 10^{-8}$	$(1.00 \pm 0.04) \cdot 10^{-8}$	0.042
	$1 \cdot 10^{-7}$	$(0.98 \pm 0.04) \cdot 10^{-7}$	0.037

граница определяемых содержаний находится на уровне $(4 - 7) \cdot 10^{-11}$ М.

Правильность результатов оценивали способом «введено-найдено» (см. табл. 2). Относительное стандартное отклонение (S_r) не более 0.046.

Последовательное инъекционное определение антидепрессантов с помощью амперометрических иммуносенсоров на основе гибридных модификаторов является перспективным, что также подтверждают данные о сопоставлении аналитических возможностей существующих и разработанного способов. Так, капиллярный электрофорез [32], хроматографические [33] и спектрофотометрические [34] методы имеют более высокий предел обнаружения (выше

на 3, 2 и 1 порядка соответственно) и более узкие диапазоны рабочих концентраций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложен способ последовательного инъекционного определения трициклических антидепрессантов (амитриптилин, дезипрамин, имипрамин), который способствует повышению чувствительности, воспроизводимости, экспрессности и производительности анализа. В режиме последовательного инъекционного анализа скорость развертки 10 мВ/с, при этом варьировали скорость потока (фосфатный буферный раствор с pH 7.0) от 20 до 40 мкл/с.

Использование амперометрических иммуносенсоров на основе печатных графитовых электродов, модифицированных углеродными наноматериалами (углеродные нанотрубки, оксид графена или фуллерен) в сочетании с цианидными кластерами рения, обеспечивает высокую селективность определения за счет прочного и комплементарного связывания рассматриваемых иммунологических пар (константы аффинности $(3.7 \pm 0.2) \cdot 10^{10}$ моль⁻¹ и $(4.5 \pm 0.3) \cdot 10^9$ моль⁻¹). Относительное стандартное отклонение (S_r) не более 0.046. Разработанные иммуносенсоры могут найти применение для определения лекарственных соединений строгого учета как в медико-биологических, так и судебно-криминалистических определениях в режиме последовательного инъекционного анализа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Поведенческие и нейрохимические аспекты взаимодействия антидепрессантов и непредсказуемого хронического умеренного стресса / Н.В. Кудряшов [и др.] // *Acta Naturae*. 2020. Т. 12, № 1. С. 63-72.
2. Vardanyan R., Hruby V. *Synthesis of best-seller drugs*. Amsterdam: Academic Press, 2016. 846 p.
3. Ghafoor R., Rasool F. Antidepressants and antipsychotics: Anaesthetic implications // *Anaesth. Intensive Care Med.*: *Pharmacol.* 2017. V. 18, № 7. P. 340-343.
4. Thanacoody R. Antidepressant and antipsychotic poisoning // *Med. Poisonous substances*. 2020. V. 48, № 3. P. 194-196.
5. Пьезоэлектрический иммуносенсор на основе магнитных углеродных нанокомпозитов для определения ципрофлоксацина / Е.В. Бизина [и др.] // *Ж. аналит. химии*. 2022. Т. 77, № 4. С. 375-383.
6. Применение углеродных нанотрубок для повышения чувствительности определения антибиотиков с помощью пьезоэлектрического иммуносенсора / Е.И. Шинко [и др.] // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. 2021. Т. 87, № 12. С. 11-16.
7. *Advances in immunosensors for clinical applications* / L.R. Balahura [et al.] // *J. Immunoassay Immunochem*. 2019. V. 40. P. 40-51.
8. Single domain antibodies in the development of immunosensors for diagnostics / E.A. Bastos-Soares [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* 2020. V. 165. P. 2244-2252.
9. Модификация поверхности электродов углеродными нанотрубками и наночастицами металлов золота и серебра в моноаминоксидазных биосенсорах для опре-

- деления некоторых антидепрессантов / Э.П. Медянцева [и др.] // *Ж. аналит. химии*. 2017. Т. 72, № 4. С. 305-313.
10. A paper-based electrochemical immunosensor with reduced graphene oxide/thionine/gold nanoparticles nanocomposites modification for the detection of cancer antigen 125 / Y. Fan [et al.] // *Biosens. Bioelectron.* 2019. V. 135. P. 1-7.
11. A competitive immunosensor for ultrasensitive detection of sulphonamides from environmental waters using silver nanoparticles decorated single-walled carbon nanohorns as labels / Z. Zhang [et al.] // *Chemosphere*. 2019. V. 225. P. 282-287.
12. A novel oriented immunosensor based on AuNPs-thionine-CMWCNTs and staphylococcal protein A for interleukin-6 analysis in complicated biological samples / Z. Wang [et al.] // *Anal. Chim. Acta*. 2020. V. 1140, № 23. P. 145-152.
13. Наноразмерные материалы в составе биосенсоров для определения амитриптилина / Э.П. Медянцева [и др.] // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. 2021. Т. 87, № 9. С. 20-29.
14. Farias E.D., Passeggi M.C.G., Brunetti V. Thermal transitions in hyperbranched polyester-polyol assemblies on carbon // *Eur. Polym. J.* 2018. V. 102. P. 68-74.
15. Нанокластеры рения как модификаторы иммуносенсоров при определении трициклических антидепрессантов / Э.П. Медянцева [и др.] // *Ж. аналит. химии*. 2021. Т. 76, № 12. С. 1123-1136.
16. Simultaneous determination of sinapic acid and tyrosol by flow-injection analysis with multiple-pulse amperometric detection // D. Baval [et al.] *Monatshefte für Chemie Chem. Monthly*. 2018. V. 149, № 9. P. 1679-1684.
17. Flow injection tyrosinase biosensor for direct determination of acetaminophen in human / A. Frangu [et al.] // *Anal. Bioanal. Chem.* 2019. V. 411, № 11. P. 2415-2424.
18. Амперометрическое детектирование триптофана и пиридоксина на двойном планарном электроде, модифицированном наночастицами золота, в проточно-инъекционной системе / Л.Г. Шайдарова [и др.] // *Ж. аналит. химии*. 2019. Т. 74, № 6. С. 437-444.
19. Flow injection analysis system with electrochemical detection for the simultaneous determination of nanomolar levels of acetaminophen and codeine / A.M. Santos [et al.] // *Arabian J. Chem.* 2020. V. 13, № 1. P. 335-345.
20. Kurbanoglu S., Unal M.A., Ozkan S.A. Recent developments on electrochemical flow injection in pharmaceuticals and biologically important compounds // *Electrochim. Acta*. 2018. V. 287. P. 135-148.
21. Comprehensive study of hexarhenium cluster complex $\text{Na}_4[\text{Re}_6\text{Te}_6(\text{CN})_6]$ – In terms of a new promising luminescent and X-ray contrast agent / A.A. Krasilnikova [et al.] // *Nanomed.*: *NBM*. 2017. V. 13, № 2. P. 755-763.
22. Octahedral hexahydroxorhenium cluster complexes $[\text{Re}_6\text{Q}_6(\text{OH})_6]^{4+}$ (Q = S, Se): Synthesis, structure, and properties / S.S. Yarovoi [et al.] // *Eur. J. Inorg. Chem.* 2005. V. 19, № 19. P. 3945-3949.
23. Гибридные нанокомпозиты как модификаторы электродов амперометрических иммуносенсоров при определении амитриптилина / Э.П. Медянцева [и др.] // *Ж. аналит. химии*. 2020. Т. 75, № 4. С. 360-367.
24. Measuring affinity constants of 1450 monoclonal antibodies to peptide targets with a microarray-based label-free assay platform / J.P. Landry [et al.] // *J. Immunol. Methods*. 2015. V. 417. P. 86-96.
25. Felix F.S., Angnes L. Electrochemical immunosensors – A powerful tool for analytical applications / *Biosens. Bioelectron.* 2018. V. 102. P. 470-478.

26. Определение констант связывания иммунных комплексов по данным вольтамперометрических измерений / М.П. Кутырева [и др.] // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2012. Т. 154, № 4. С. 124-134.
27. Амперометрические L-цистеиндисульфидразные биосенсоры на основе модифицированных графитовых печатных электродов для определения антидепрессантов / Э.П. Медянцева [и др.] // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2013. Т. 155, № 2. С. 51-65.
28. Золотов Ю.А. Проблемы аналитической химии. Т. 17: Проточный химический анализ. – М.: Наука, 2014. 428 с.
29. Автоматизация и миниатюризация химического анализа на принципах проточных методов (обзор) / А.В. Булатов [и др.] // Научное приборостроение. 2015. Т. 25, № 2. С. 3-26.
30. Screening of extraction properties of nanofibers in a sequential injection analysis system using a 3D printed device / I.H. Šramkova [et al.] // *Talanta*. 2019. V. 197. P. 517-521.
31. Electron Re₆ metal clusters: Syntheses and crystal structures of (Ph₄P)₃[Re₆Se₈(CN)₆], (Ph₄P)₂(H)[Re₆Se₈(CN)₆]•8H₂O, and (Et₄N)₂(H)-[Re₆Te₈(CN)₆]•2H₂O / N. Naumov [et al.] // *Russ. Chem. Bull.* 2002. V. 51, № 5. P. 866-871.
32. The effect of membrane thickness on supported liquid membrane extractions in-line coupled to capillary electrophoresis for analyses of complex samples / L. Rysava [et al.] // *J. Chromatogr. A*. 2019. V. 1596. P. 226-232.
33. Evaluation of dispersive liquid-liquid microextraction by coupling with green-based agarose gel-electromembrane extraction: An efficient method to the tandem extraction of basic drugs from biological fluids / H. Tabani [et al.] // *Talanta*. 2019. V. 199. P. 329-335.
34. A novel strategy for spectrophotometric simultaneous determination of amitriptyline and nortriptyline based on derivation with a quinonoid compound in serum samples / A. Farhoudian-Habibi [et al.] // *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc.* 2016. V. 168. P. 235-243.
7. Balahura L.R., Stefan-Van Staden R.I., Van Staden J.F., Aboul-Enein H.Y. Advances in immunosensors for clinical applications. *J. of Immunoassay Immunochemistry*, 2019, vol. 40, pp. 40-51. doi:10.1080/15321819.2018.1543704.
8. Bastos-Soares E.A., Sousa R.M.O., Gómez A.F., Alfonso J., Kayano A.M., Zanchi F.B., Funes-Huacca M.E., Stábeli R.G., Soares A.M., Pereira S.S., Fernandes C.F.C. Single domain antibodies in the development of immunosensors for diagnostics. *International J. of Biological Macromolecules*, 2020, vol. 165, pp. 2244-2252. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.10.031.
9. Medyantseva E.P., Brusnitsyn D.V., Varlamova R.M., Maksimov A.A., Konovalova O.A., Budnikov G.K. [Surface modification of electrodes by carbon nanotubes and gold and silver nanoparticles in monoaminoxidase biosensors for the determination of some antidepressants]. *Zh. analit. khimii [J. Analit. Chem.]*, 2017, vol. 72, no. 4, pp. 362-370. doi: 10.1134/S1061934817040086 (in Russian).
10. Fan Y., Shi S., Ma J., Guo Y. A paper-based electrochemical immunosensor with reduced graphene oxide/thionine/gold nanoparticles nanocomposites modification for the detection of cancer antigen 125. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019, vol. 135, pp. 1-7. doi: 10.1016/j.bios.2019.03.063.
11. Zhang Z., Yang M., Wu X., Dong S., Zhu N., Gyimah E., Wang K., Li Y. A competitive immunosensor for ultrasensitive detection of sulphonamides from environmental waters using silver nanoparticles decorated single-walled carbon nanohorns as labels. *Chemosphere*, 2019, vol. 225, pp. 282-287. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.03.033.
12. Wang Z., Yang S., Wang Y., Feng W., Li B., Jiao J., Han B., Chen Q. A novel oriented immunosensor based on AuNPs-thionine-CMWCNTs and staphylococcal protein A for interleukin-6 analysis in complicated biological samples. *Anal. Chim. Acta*, 2020, vol. 1140, no. 23, pp. 145-152. doi: 10.1016/j.aca.2020.10.025.
13. Medyantseva E.P., Brusnitsyn D.V., Gazizullina E.R., Beilinson R.M., Eremin S.A., Kuttyeva M.P., Ulakhovich N.A., Budnikov G.K. [Nanoscale materials as part of biosensors for the determination of amitriptyline]. *Zavodskaja laboratorija. Diagnostika materialov [Industrial laboratory. Diagnostics of materials]*, 2021, vol. 87, no. 9, pp. 20-29. doi: 10.26896/1028-6861-2021-87-9-20-29 (in Russian).
14. Farias E.D., Passeggi M.C.G., Brunetti V. Thermal transitions in hyperbranched polyester-polyol assemblies on carbon. *European Polymer J.*, 2018, vol. 102, pp. 68-74. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2018.03.021.
15. Medyantseva E.P., Gazizullina E.R., Brusnitsyn D.V., Ziganshin M.A., Elistratova Iu.G., Mustafina A.R., Brylev K.A., Budnikov G.K. [Rhenium nanoclusters as immunosensor modifiers in the determination of tricyclic antidepressants]. *Zh. analit. khimii [J. Analit. Chem.]*, 2021, vol. 76, no. 12, pp. 1123-1136. doi: 10.31857/S0044450221120070 (in Russian).
16. Baval D., Economou A., Zima J., Berek J., Dejmekova H. Simultaneous determination of sinapic acid and tyrosol by flow-injection analysis with multiple-pulse amperometric detection. *Monatshefte für Chemie Chemical Monthly*, 2018, vol. 149, no. 9, pp. 1679-1684. doi: 10.1007/s00706-018-2189-8.
17. Frangu A., Pravcová K., Šilarová P., Arbneshi T., Sýs M. Flow injection tyrosinase biosensor for direct determination of acetaminophen in human. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2019, vol. 411, no. 11, pp. 2415-2424. doi: 10.1007/s00216-019-01687-4.
18. Shaidarova L.G., Chelnokova I.A., Il'ina M.A., Leksina Iu.A., Budnikov G.K. [Amperometric detection of tryptophane and pyridoxine on a dual screen-printed electrode modified by gold nanoparticles in a flow-injection system]. *Zh. analit. khimii [J. Analit. Chem.]*, 2017, vol. 72, no. 4, pp. 362-370. doi: 10.1134/S1061934817040086 (in Russian).

REFERENCES

1. Kudryashov N.V., Kalinina T.S., Shimshirt A.A., Volkova A.V., Narkevich V.B., Naplekova P.L., Kasabov K.A., Kudrin V.S., Voronina T.A., Fisenko V.P. The behavioral and neurochemical aspects of the interaction between antidepressants and unpredictable chronic mild stress. *Acta Naturae*, 2020, vol. 12, no. 1, pp. 63-72. doi: 10.32607/actanaturae.10942.
2. Vardanyan R., Hruby V. *Synthesis of best-seller drugs*. Amsterdam, Academic Press, 2016. 846 p.
3. Ghafoor R., Rasool F. Antidepressants and antipsychotics: Anaesthetic implications. *Anaesthesia and intensive care medicine. Pharmacology*, 2017, vol. 18, no. 7, pp. 340-343. doi: 10.1016/j.mpaic.2017.04.005.
4. Thanacoody R. Antidepressant and antipsychotic poisoning. *Medicine*, 2020, vol. 48, no. 3, pp. 194-196. doi:10.1016/j.mpmed.2019.12.012.
5. Bizina E.V., Farafonova O.V., Ermolaeva T.N., Zolotareva N.I., Grazhulene S.S. [A piezoelectric immunosensor based on magnetic carbon nanocomposites for the determination of ciprofloxacin]. *Zh. analit. khimii [J. Analit. Chem.]*, 2022, vol. 77, № 4, pp. 458-465. doi: 10.31857/S0044450222040041 (in Russian).
6. Shinko E.I., Farafonova O.V., Ermolaeva T.N. [The use of carbon nanotubes to increase the sensitivity of the antibiotic determination with a piezoelectric immunosensor]. *Zavodskaja laboratorija. Diagnostika materialov [Industrial laboratory. Diagnostics of materials]*, 2021, vol. 87, no. 12, pp. 11-16. doi: 10.26896/1028-6861-2021-87-12-12-17 (in Russian).

- it. *khimii* [J. *Analit. Chem.*], 2019, vol. 74, no. 6, pp. 584-590. doi: 10.1134/S106193481906011X (in Russian).
19. Santos A.M., Silva T.A., Vicentini F.C., Fatibello-Filho O. Flow injection analysis system with electrochemical detection for the simultaneous determination of nanomolar levels of acetaminophen and codeine. *Arabian J. of Chemistry*, 2020, vol. 13, no. 1, pp. 335-345. doi: 10.1016/j.arabj.2017.04.012.
 20. Kurbanoglu S., Unal M.A., Ozkan S.A. Recent developments on electrochemical flow injection in pharmaceuticals and biologically important compounds. *Electrochimica Acta*, 2018, vol. 287, pp. 135-148. doi: 10.1016/j.electacta.2018.04.217.
 21. Krasilnikova A.A., Solovieva A.O., Ivanov A.A., Trifonova K.E., Pozmogova T.N., Tsygankova A.R., Smolentsev A.I., Kretov E.I., Sergeevichev D.S., Shestopalov M.A., Mironov Y.V., Shestopalov A.M., Poveshchenko A.F., Shestopalova L.V. Comprehensive study of hexarhenium cluster complex $\text{Na}_4[\text{Re}_6\text{Te}_8(\text{CN})_6]$ – In terms of a new promising luminescent and X-ray contrast agent. *Nanomedicine: NBM*, 2017, vol. 13, no. 2, pp. 755-763. doi: 10.1016/j.nano.2016.10.016.
 22. Yarovoi S.S., Mironov Y.V., Naumov D.Y., Gatilov Y.V., Kozlova S.G., Kim S.J., Fedorov V.E. Octahedral hexahydroxorhenium cluster complexes $[\text{Re}_6\text{Q}_8(\text{OH})_6]^{4-}$ (Q = S, Se): Synthesis, structure, and properties. *European J. of Inorganic Chemistry*, 2005, vol. 19, no. 19, pp. 3945-3949. doi: 10.1002/ejic.200500284.
 23. Medyantseva E.P., Brusnitsyn D.V., Gazizullina E.R., Varlamova R.M., Konovalova O.A., Budnikov G.K. [Hybrid nanocomposites as electrode modifiers in amperometric immunosensors for the determination of amitriptyline]. *Zh. analit. khimii* [J. *Analit. Chem.*], 2020, vol. 75, no. 4, pp. 536-543. doi: 10.1134/S1061934820040103 (in Russian).
 24. Landry J.P., Ke Y., Yu G.L., Zhu X.D. Measuring affinity constants of 1450 monoclonal antibodies to peptide targets with a microarray-based label-free assay platform. *J. of Immunological Methods*, 2015, vol. 417, pp. 86-96. doi: 10.1016/j.jim.2014.12.011.
 25. Felix F.S., Angnes L. Electrochemical immunosensors – A powerful tool for analytical applications. *Biosensors and Bioelectronics*, 2018, vol. 102, pp. 470-478. doi: 10.1016/j.bios.2017.11.029.
 26. Kutyreva M.P., Medyantseva E.P., Haldeeva E.V., Gataulina A.R., Ulakhovich N.A., Budnikov G.K. [Determination of the binding constants of immune complexes according to voltammetric measurements]. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki* [Scientists Notes of Kazan University. Natural Science Series], 2012, vol. 154, no. 4, pp. 124-134 (in Russian).
 27. Medyantseva E.P., Brusnitsyn D.V., Varlamova R.M., Baibatarova M.A., Budnikov G.K. [Amperometric L-cysteinylsulfhydrylase biosensors based on modified graphite screen-printed electrodes for the determination of antidepressants]. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki* [Scientists Notes of Kazan University. Natural Science Series], 2013, vol. 155, no. 2, pp. 51-65 (in Russian).
 28. Zolotov Iu. A., *Problemy analiticheskoy khimii. T. 17. Protchnyy himicheskij analiz* [Problems of analytical chemistry. Vol. 17. Flow chemical analysis.], Moscow: Nauka, 2014 (in Russian).
 29. Bulatov A.V., Moskvina A.L., Moskvina L.N., Vakh K.S., Fal'kova M.T., Shishov A.Iu. [Automation and miniaturization of chemical analysis based on the principles of flow methods (review)]. *Nauchnoe priborostroyeniye* [Scientific instrumentation], 2015, vol. 25, no. 2, pp. 3-26 (in Russian).
 30. Šramkova I.H., Carbonell-Rozas L., Horstkotte B., Hakova M., Erben J., Chvojka J., Švec F., Solich P., Garcia-Campana A.M., Šatinsky D. Screening of extraction properties of nanofibers in a sequential injection analysis system using a 3D printed device. *Talanta*, 2019, vol. 197, pp. 517-521. doi: 10.1016/j.talanta.2019.01.050.
 31. Naumov N., Ostanina E.V., Virovets A.V., Schmidtman M., Müller A., Fedorov V. Electron Re6 metal clusters: Syntheses and crystal structures of $(\text{Ph}_4\text{P})_3[\text{Re}_6\text{S}_8(\text{CN})_6]$, $(\text{Ph}_4\text{P})_2(\text{H})[\text{Re}_6\text{Se}_8(\text{CN})_6] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, and $(\text{Et}_4\text{N})_2(\text{H})[\text{Re}_6\text{Te}_8(\text{CN})_6] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. *Russian Chemical Bulletin*, 2002, vol. 51, no. 5, pp. 866-871. doi: 10.1023/A:1016053305232.
 32. Rysava L., Dvorak M., Kuban P. The effect of membrane thickness on supported liquid membrane extractions in-line coupled to capillary electrophoresis for analyses of complex samples. *J. of Chromatography A*, 2019, vol. 1596, pp. 226-232. doi: 10.1016/j.chroma.2019.02.067.
 33. Tabani H., Shokri A., Tizro S., Nojavan S., Varanusupakul P., Alexovič M. Evaluation of dispersive liquid-liquid microextraction by coupling with green-based agarose gel-electromembrane extraction: An efficient method to the tandem extraction of basic drugs from biological fluids. *Talanta*, 2019, vol. 199, pp. 329-335. doi: 10.1016/j.talanta.2019.02.078.
 34. Farnoudian-Habibi A., Massoumi B., Jaymand M. A novel strategy for spectrophotometric simultaneous determination of amitriptyline and nortriptyline based on derivation with a quinonoid compound in serum samples. *Spectrochim. Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2016, vol. 168, pp. 235-243. doi: 10.1016/j.saa.2016.06.013.