Вольтамперометрический сенсор на основе аминокислотного комплекса меди (II) для определения энантиомеров триптофана

*Р.А. Зильберг, Ю.Б. Терес, Л.Р. Загитова, Ю.А. Яркаяева, Т.В. Берестова

*Башкирский государственный университет, химический факультет
Российская Федерация, 450076, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32*

*Адрес для переписки: Зильберг Руфина Алексеевна, e-mail: ZilbergRA@yandex.ru

Поступила в редакцию 12 августа 2021 г., после доработки – 14 сентября 2021 г.

Разработан вольтамперометрический сенсор на основе композита полиарилефталатида (ПАФ) и графитированной сажи Carbolack C, модифицированной хелатными комплексами L-аргенато-L-аланинатов меди (II), для распознавания и селективного определения энантиомеров триптофана (Трп). Оптимизированы условия модифицирования сенсора, рассчитана площадь эффективной поверхности ($A = 4.38 \pm 0.06 \text{ мм}^2$) и сопротивление переноса электрона ($R_{\text{et}} = 1.29 \pm 0.08 \text{ кОм}$). Подобраны оптимальные условия регистрации вольтамперограмм энантиомеров Трп: диапазон рабочих потенциалов 0.5-1.2 В, скорость сканирования потенциала 20 мВ/с, время выдерживания электрода в исследуемом растворе 5 с. Изучены электрохимические и аналитические характеристики сенсора при регистрации дифференциально-импульсных вольтамперограмм (ДИВ) энантиомеров Трп. Показано, что зависимость аналитического сигнала от концентрации L-Трп и D-Трп линейна в диапазоне от $1.25 \cdot 10^{-6}$ до $1.00 \cdot 10^{-3}$ М с пределами обнаружения (ПО) $0.90 \cdot 10^{-6}$ М для L-Трп и $0.66 \cdot 10^{-6}$ М для D-Трп. Наибольшую чувствительность разработанный сенсор проявляет к D-Трп. Сенсор успешно апробирован для определения содержания L- и D-Трп в растворах энантиомеров в присутствии вспомогательных веществ, входящих в состав лекарственных препаратов и биологически активных добавок. Предложенный сенсор позволяет проводить определения энантиомеров Трп в моче и плазме крови человека. Для оценки правильности определения D- и L-Трп использован метод «введено-найденно». При определении энантиомеров Трп в модельных растворах ($n = 5$; $P = 0.95$) относительное стандартное отклонение не превышает 2.3 %, а относительная погрешность – 1.7 %. При определении D- и L-Трп в биологических жидкостях ($n = 5$; $P = 0.95$) относительное стандартное отклонение колеблется в пределах 0.3-1.7 %, а относительная погрешность в пределах 0.3-5.6 %. Результаты исследований показывают отсутствие значимой систематической погрешности.

Ключевые слова: вольтамперометрия, модифицированные электроды, энантиомеры, аминокислоты, триптофан, полиарилефталатид, биологически активные добавки, спортивное питание.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2021, vol. 25, no. 3, pp. 193-204

DOI: 10.15826/analitika.2021.25.3.006

Voltammetric sensor based on the copper (II) amino acid complex for the determination of tryptophan enantiomers

*R.A. Zilberg, Yu.B. Teres, L.R. Zagitova, Yu.A. Yarkaeva, T.V. Berestova

Bashkir State University, Department of Chemistry, Validy Str., 32, Ufa, 450076, Russian Federation

*Corresponding author: Rufina A. Zilberg e-mail: ZilbergRA@yandex.ru

Submitted 12 August 2021, received in revised form 14 September 2021

A voltammetric sensor based on a composite of polyarylene phthalide and graphitized carbon black Carbolack C modified with chelate complexes of L-argenato-L-alaninate of copper (II) has been developed for the recognition and selective determination of tryptophan enantiomers. The conditions for modifying the sensor are optimized, the effective surface area ($A = 4.38 \pm 0.06 \text{ мм}^2$) and the effective resistance

($R_{et} = 1.29 \pm 0.08 \text{ k}\Omega$) are calculated. The optimal conditions for recording voltammograms of tryptophan enantiomers are selected: the range of operating potentials is 0.5-1.2 V, the potential sweep rate is 20 mV/s, the holding time of the electrode in the test solution is 5 s. The electrochemical and analytical characteristics of the sensor were studied when registering differential pulse voltammograms of tryptophan enantiomers. It is shown that the dependence of the analytical signal on the concentration is linear in the range from $1.25 \cdot 10^{-6}$ to $1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ with detection limits of $0.90 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ for L-Trp and $0.66 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ for D-Trp. The developed sensor shows the greatest sensitivity to D-Trp. The sensor has been successfully tested to determine the content of L- and D-Trp in enantiomer solutions in the presence of excipients that are part of medicines and biologically active additives. The proposed sensor allows the determination of tryptophan enantiomers in human urine and blood plasma. To evaluate the analytical capabilities of the sensor, the "entered-found" method was used. When determining tryptophan enantiomers in model solutions, the relative standard deviation does not exceed 2.3 %, and the relative error is 1.7 %. When determining D- and L-Trp in biological fluids, the relative standard deviation ranges from 0.3-1.7 %, and the relative error ranges from 0.3-5.6 %. The research results show that there is no significant systematic error.

Keywords: voltammetry, modified electrodes, enantiomers, amino acids, tryptophan, polyarylenephthalide, biologically active additives, sports nutrition.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что аминокислота **L-Трп** (триптофан) играет важную роль в процессах жизнедеятельности человеческого организма. Например, она участвует в регуляции роста, формировании иммунного отклика и поведенческих реакций. Установлено, что недостаток Трп является одним из факторов, отвечающих за нарушение сна, формирование хронической болезни почек, булимии и ряда психических расстройств [1, 2]. Ряд современных исследований [3-5] свидетельствует о связи метаболизма Трп с патогенезом рака. При увеличении размеров опухоли увеличивается скорость метаболизма Трп, что сопровождается накоплением соответствующих метаболитов и способствует подавлению иммунного отклика. Также отмечается связь с изменением метаболизма Трп при развитии аутоиммунных заболеваний и коронавирусной инфекции [6-9]. В плазме крови и в моче здорового человека содержание L-Трп составляет 30-80 мкмоль/л и 160 мкмоль/л соответственно, в то время как у людей с различными заболеваниями эти значения могут быть выше или ниже нормы. Например, при сердечно-сосудистых и онкологических заболеваниях содержание Трп уменьшается, а при черепно-мозговых травмах и сепсисе возрастает [10]. С учетом вышеизложенного разработка доступных и экспрессных методов определения энантиомеров Трп в биологических жидкостях, а также контроль качества биологически активных добавок, содержащих L-Трп, является актуальной задачей.

Широко применяемые современные методы определения энантиомеров Трп основываются на ядерном магнитном резонансе [11], капиллярном электрофорезе [12], хиральной хроматографии [13-15], флуоресцентной спектроскопии [16-17], масс-спектрометрии [15] и не вполне соответствуют требованиям простоты и экспрессности определений. Поэтому все большее внимание уделяется вольтамперометрическим методам определения энантиомеров, т.к. они обладают экспрессностью,

высокой чувствительностью, избирательностью, селективностью и простотой выполнения измерений. Ключевым элементом вольтамперометрического определения энантиомеров является иммобилизация хирального селектора на поверхность сенсора, которую осуществляют различными способами [18-21]. Для распознавания и определения энантиомеров Трп в последнее время широко применяются сенсоры из стеклоуглеродного электрода (**СУЭ**) с хиральными селекторами на основе композитов графена с хитозаном [22], хитозана с ДНК [23], композитов полиарилефталата (**ПАФ**) с циклодекстринами [24], а также композитов на основе многослойных углеродных нанотрубок с полидофамином и комплексов меди (II) [25], аминокислот и их производных [26-27]. Также имеются сведения о применении в качестве хиральных селекторов аминокислотных комплексов переходных металлов [28].

Целью данного исследования явилось всестороннее изучение энантиоселективного сенсора на основе СУЭ, на поверхность которого нанесен композит ПАФ с графитированной сажей Carboblack C, модифицированной хелатным комплексом L-аргената-L-аланината меди (II) для распознавания и определения энантиомеров Трп в биологических жидкостях и биологически активных добавках.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Электрохимические измерения проводили в трехэлектродной ячейке, состоящей из немодифицированного или модифицированного СУЭ диаметром 3 мм в качестве рабочего электрода, платиновой пластинки площадью 200 мм² в качестве вспомогательного электрода и хлоридсеребряного электрода (Ag/AgCl (3.5 M KCl)) в качестве электрода сравнения. Исследования проводили с помощью потенциостата/гальваностата AUTOLAB PGSTAT 204, на котором регистрировали циклические (**ЦВ**) и дифференциально-импульсные (**ДИВ**) вольтамперограммы. ЦВ регистрировали в диапазоне потенциалов от 0.3 до 1.2 В со скоростью сканирования потенциала 100 мВ/с. ДИВ регистрировали в диапазоне потенциалов от 0.5 до 1.2 В с амплитудой

25 мВ, интервалом времени 0.5 с, временем модуляции 0.05 с и скоростью сканирования потенциала 20 мВ/с. В электрохимическую термостатируемую при 25 ± 0.1 °С ячейку помещали 20 мл аналита и проводили регистрацию вольтамперных кривых. Массив данных для каждого образца состоял из пяти параллельных измерений, достаточных для получения воспроизводимых результатов. Перед регистрацией вольтамперограмм индикаторный электрод выдерживали в течение 5 с в исследуемом растворе. Значения токов и потенциалов пиков окисления, параметры эквивалентных электрических схем определяли с использованием программного обеспечения AUTOLAB NOVA 2.1.

В качестве исследуемых образцов использовали препараты L- и D-Трп (Sigma-Aldrich, США). Фоновым электролитом служил фосфатный буферный раствор с pH 6.86 ($\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$), приготовленный на деионизированной воде. Раствор эквимольной смеси $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (5 мМ) готовили на фоне 0.1 М KCl и использовали в качестве стандартного при электрохимических измерениях. Стандартные растворы энантиомеров Трп (1 мМ) получали растворением точных навесок соответствующих реагентов в 50 мл фосфатного буферного раствора с pH 6.86 под действием ультразвука в течение 2 минут для полного растворения. Растворы более низких концентраций получали разбавлением исходных растворов.

Для оценки мешающего влияния вспомогательных веществ (лактоза, сахароза, крахмал, тальк, стеарат кальция) и других аминокислот (таурин, лизин, аргенин, цитруллин, креатин, метионин и тирозин), входящих в состав биологически активных добавок, готовили серию растворов энантиомеров Трп (1 мМ) с каждым из мешающих компонентов (1 мМ) растворением известного количества вещества в 50 мл фосфатного буферного раствора. Путем серийного разбавления готовили растворы с концентрациями 0.1, 0.5 и 0.9 мМ.

Для исследования проб мочи было получено письменное согласие донора, все эксперименты проводили в соответствии с действующим законодательством. Образцы плазмы крови здорового человека предоставлены Уфимской Республиканской станцией переливания крови. Перед приготовлением растворов аналитов образцы мочи и плазмы крови объемом 2.5 мл центрифугировали в течение 10-15 минут. Растворы исследуемых концентраций энантиомеров Трп (0.1, 0.5 и 0.9 мМ) готовили разбавлением в фосфатном буферном растворе соответствующей аликвоты с добавлением 2.5 мл биологической жидкости.

При исследовании таблетированных форм биологически активных добавок (Эвалар и Scitec Nutrition) в 100 мл фосфатного буферного раствора растворяли содержимое исследуемой капсулы (500 мг L-Трп) и помещали в ультразвуковую ванну на 8 мин для полного растворения образца. Растворы исследуемых концентраций L-Трп (0.5 и 0.7 мМ)

готовили разбавлением соответствующей аликвоты фосфатным буферным раствором.

Для исследования комплексного влияния всех компонентов, входящих в состав спортивного питания, готовили 1 мМ раствор L-Трп с эквимольным содержанием энергетического комплекса Amino Energy (производитель Optimum Nutrition), состоящего из смеси микронизированных аминокислот: таурин, L-Глутамин, L-Аргенин, L-Лейцин, Бета-Аланин, L-Цитруллин, L-Изолейцин, L-Валин, L-Тирозин, L-Гистидин, L-Лизин HCL, L-Фенилаланин, L-Треонин, L-Метионин; энергетической смеси (кофеин, экстракт зеленого чая, экстракт зеленого кофе) и других ингредиентов (натуральный и искусственный ароматизатор, яблочная кислота, цитрусовая кислота, диоксид кремния, силикат кальция, кофеин, сукралоза, винная кислота, ацесульфам калия, соевый лецитин). Растворы исследуемых концентраций L-Трп (0.1, 0.5 и 0.9 мМ) готовили разбавлением соответствующей аликвоты фосфатным буферным раствором.

Для модифицирования СУЭ в качестве основы композита использовали ПАФ, выполняющий роль подложки для удержания хирального селектора. 0.001 г ПАФ растворяли в 10 мл хлороформа. Графитированную сажу Carboblack C (Restek, США) с удельной площадью поверхности $10 \text{ м}^2/\text{г}$ и размером частиц 60-80 меш использовали для увеличения электроактивной площади поверхности электрода. Carboblack C – широко распространенный в хроматографии адсорбент, который имеет гладкую однородную поверхность. В качестве хирального селектора применяли хелатный аминокислотный комплекс L-аргенато-L-аланинат $\text{Cu}(\text{II})$ $[\text{Cu}(\text{L-Arg})(\text{L-Ala})]$ (рис. 1), который получали взаимодействием CuSO_4 («ч.д.а.») с L-аргинином (L-Arg) и L-аланином (L-Ala) по известной методике [29]. Для синтеза использовали аминокислоты следующих производителей «AppliChem Panreac» ITW Companies и «АВИЛОН-КОМПАНИХИМ». Твердый образец комплекса $[\text{Cu}(\text{L-Arg})(\text{L-Ala})]$ идентифицировали методом Фурье-ИК спектроскопии и рентгенофазового анализа (дифрактометр ДРОН-4, линия $\text{CuK}\alpha$ 1.5406 Å). ИК-спектры поглощения регистрировали в диапазоне $450\text{--}3700 \text{ см}^{-1}$ с использованием Фурье-спектрометра FTIR-8400S (Shimadzu) при комнатной

Рис. 1. Структура аминокислотного комплекса меди (II) - $[\text{Cu}(\text{L-Arg})(\text{L-Ala})]$.

Fig. 1. Structure of the amino acid complex of copper (II) - $[\text{Cu}(\text{L-Arg})(\text{L-Ala})]$.

Рис. 2. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы 1мМ растворов энантиомеров Трп в фосфатном буфере с рН 6.86 на СУЭ/ПАФ/CarboblackC(а) и СУЭ/ПАФ/CarboblackC/[Cu(L-Arg)(L-Ala)](б) при скорости сканирования потенциала 20 мВ/с.

Fig. 2. Differential-pulse voltammograms of 1 mM solutions of Trp enantiomers in a phosphate buffer with a pH of 6.86 on GCE/PAP/CarboblackC (a) and GCE/PAP/CarboblackC/[Cu(L-Arg)(L-Ala)] (b) at a potential scanning rate of 20 mV/s.

температуре (разрешение – 4 см⁻¹, количество сканирований – 20): ИК (KBr, см⁻¹ [Cu(L-Arg)(L-Ala)] (1): 3470-3123 уш. сл. ($\nu_{as,s}(-NH_2)$); 2962 сл., 2839 ср., 2716 сл. ($\nu_{as,s}(-CH, CH_2)$); 1608 о.с. ($\nu_{as,s}(C=O)$); 1385 ср., 1364 ср. ($\nu_{as,s}(C-O)+\delta(CH)$); 1187 ср., 1140 ср., 1116 ср. ($\nu(C-N)+\delta(NH_2)+\delta(CH)$).

Перед модифицированием поверхность СУЭ полировали в течение 30 секунд с использованием эмульсии оксида алюминия (0.3 мкм) и полировочного материала Spec-Cloth Adhesive black disc (200 мм), приобретенного у Allied High Tech Products Inc. (США), а затем ополаскивали деионизированной водой.

Приготовление хирального модификатора проводили в два этапа. Предварительно модифицировали Carboblack C путем добавления 2-3 капель 0.1 % водного раствора аминокислотного комплекса [Cu(L-Arg)(L-Ala)] к 0.2 г порошка Carboblack C при перемешивании в течение 30 минут. Полученный

образец высушивали при 50 °С в сушильном шкафу до постоянной массы. Далее 0.0045 г. полученного образца Carboblack C с нанесенным аминокислотным комплексом меди, прибавляли к 10 мл ПАФ и перемешивали со скоростью не менее 450 rpm для получения однородной суспензии. Для исключения эффекта седиментации перемешивание не прекращали на всем протяжении процесса нанесения хирального модификатора на поверхность электрода. 5 мкл полученной суспензии наносили на подготовленную поверхность электрода, после чего электрод помещали под ИК-лампу (250 Вт) на расстоянии 10 см на 30 с для полного испарения растворителя.

После проведения анализа для регенерации поверхности рабочего электрода остатки пленки модификатора удаляли ватной палочкой, смоченной N,N-диметилформамидом, полировали поверхность электрода, промывали деионизированной водой и вновь модифицировали.

Таблица 1

Характеристики дифференциально-импульсных вольтамперограмм 1.0 мМ растворов L- и D-Трп на немодифицированном и модифицированных СУЭ в фосфатном буферном растворе (рН 6.86) при скорости сканирования потенциала 20 мВ/с

Table 1

Characteristics of differential-pulse voltammograms of 1.0 mM solutions of L- and D-Trp on unmodified and modified glassy carbon electrode in a phosphate buffer solution (pH 6.86) at a potential scanning speed of 20 mV/s

Электрод	E_p , В		I_p , мкА	
	L-Трп	D-Трп	L-Трп	D-Трп
СУЭ	0.80	0.80	10.81	10.80
СУЭ/ПАФ	0.83	0.83	2.58	2.70
СУЭ/ПАФ/ CarboblackC	0.82	0.82	5.19	5.32
СУЭ/ПАФ/ CarboblackC/[Cu(L- Ala)(L-Arg)]	0.82	0.81	4.35	5.86

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Особенностью энантиоселективного вольтамперометрического сенсора использующего в качестве хирального селектора [Cu(L-Arg)(L-Ala)], является введение в композит помимо ПАФ частиц графитированной сажи Carboblack C. При этом аминокислотный комплекс меди (II) наносится на сажу Carboblack C до ее введения в ПАФ и нанесения на поверхность электрода. Это позволяет увеличить эффективную площадь поверхности электрода и повысить воспроизводимость измерений.

Известно, что Трп необратимо окисляется на СУЭ в диапазоне потенциалов от 0.6 до 0.8 В в нейтральной среде [30]. На рис. 2 представлены ДИВ окисления энантиомеров Трп. Электрохимические характеристики исследованных сенсоров приведены в табл. 1. Полученные данные показывают, что отличия в аналитических сигналах энантиомеров Трп наблюдаются только на композит-

Рис. 3. Зависимость коэффициента энантиоселективности I_{PD}/I_{PL} по отношению к энантиомерам Трп и относительного стандартного отклонения аналитического сигнала от соотношения графитированной сажи Carboblack C и аминокислотного комплекса меди (а), от соотношения ПАФ и модифицированной сажи Carboblack C (б), от объема наносимого композита ПАФ/CarboblackC/[Cu(L-Arg)(L-Ala)] (в) и от срока хранения композита ПАФ/CarboblackC/[Cu(L-Arg)(L-Ala)] (г).

Fig. 3. Dependence of the enantioselectivity coefficient I_{PD}/I_{PL} with respect to the enantiomers Trp and relative standard deviation of the analytical signal on the ratio of graphitized carbon black Carboblack C and the amino acid complex of copper (a), on the ratio of PAP and modified carbon black Carboblack C (b), on the volume of the applied composite PAP/CarboblackC/[Cu(L-Arg)(L-Ala)] (c) and on the shelf life of the composite PAP/CarboblackC/[Cu(L-Arg)(L-Ala)] (d).

ном сенсоре СУЭ/ПАФ/CarboblackC/[Cu(L-Arg)(L-Ala)], на немодифицированном СУЭ, СУЭ/ПАФ, СУЭ/ПАФ/CarboblackC токи пиков окисления L- и D-Трп совпадают. Разница в токах пика окисления I_P ($I_{PD}/I_{PL} = 1.35 \pm 0.03$) и потенциалах окисления E_p ($\Delta E_p = 10 \pm 1$ мВ) свидетельствует о различиях в энергиях взаимодействия энантиомеров Трп с аминокислотным комплексом меди (II).

Для получения наиболее энантиочувствительного сенсора по отношению к Трп мы рассмотрели влияние соотношения компонентов модификатора ПАФ: Carboblack C : [Cu(L-Arg)(L-Ala)] (мас.) на коэффициент энантиоселективности и величину относительного стандартного отклонения тока пика окисления. Наилучшие результаты наблюдались при соотношении Carboblack C : [Cu(L-Arg)(L-Ala)] – 100 : 1 (мас.) (рис. 3, а) при соотношении ПАФ и модифицированной сажи Carboblack C – 1 : 4.5 (рис. 3, б). Экспериментально был установлен оптимальный объем модификатора, наносимого на поверхность электрода – 5 мкл (рис. 3, в), а также срок хранения композита ПАФ/CarboblackC/[Cu(L-Arg)(L-Ala)] – 3 дня (рис.3, г).

Для изучения электрохимических свойств сенсора были выполнены вольтамперметрические

и импедиметрические исследования с использованием в качестве редокс-зонда эквимольярной смеси ферри- и ферроцианидов калия $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (5 мМ), результаты которых представлены на рис. 4. Из ЦВ (рис. 4, а) видно, что токи окислительно-восстановительной пары $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ на СУЭ/ПАФ/CarboblackC/[Cu(L-Arg)(L-Ala)] уменьшаются по сравнению с СУЭ/ПАФ/CarboblackC, но их значения гораздо выше, чем на СУЭ/ПАФ. Параметры электронного переноса

Таблица 2

Площадь эффективной поверхности и значения сопротивления переноса электрона по данным циклической вольтамперметрии и спектроскопии электрохимического импеданса ($n = 5$, $P = 0.95$)

Table 2

The effective surface area and the values of the charge transfer resistance according to cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy ($n = 5$, $P = 0.95$)

Сенсор	A, мм ²	R_{et} , кОм
СУЭ	6.15 ± 0.09	0.52 ± 0.03
СУЭ/ПАФ	2.43 ± 0.09	2.51 ± 0.21
СУЭ/ПАФ/CarboblackC	4.48 ± 0.08	1.08 ± 0.05
СУЭ/ПАФ/CarboblackC/[Cu(L-Ala) (L-Arg)]	4.38 ± 0.06	1.29 ± 0.08

Рис. 4. Циклические вольтамперограммы (а) и диаграммы Найквиста (б) для 5.0 мМ раствора $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ на фоне 0.1М KCl на различных электродах: 1 – СУЭ, 2 – СУЭ/ПАФ/CarboblackC, 3 – СУЭ/ПАФ/CarboblackC/[Cu(L-Arg)(L-Ala)], 4 – СУЭ/ПАФ.

Fig. 4. Cyclic voltammograms (a) and Nyquist diagrams (b) for 5.0 mM solution $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ against a background of 0.1 M KCl on various electrodes: 1 – GCE, 2 – GCE/PAP/CarboblackC, 3 – GCE/PAP/CarboblackC/[Cu(L-Arg)(L-Ala)], 4 – GCE/PAP.

оценивали методом спектроскопии электрохимического импеданса, используя эквивалентную ячейку Рэндлса. Диаграммы Найквиста (рис. 4, б) показывают, что наибольшим сопротивлением переноса заряда обладает СУЭ/ПАФ. В случае композита СУЭ/ПАФ/CarboblackC/[Cu(L-Arg)(L-Ala)] значение сопротивления переноса электрона также выше, чем у СУЭ/ПАФ/CarboblackC. Для немодифицированного СУЭ оно является наименьшим (табл.

2). Таким образом, данные импедансометрии и ЦВ согласуются между собой.

Оценку площади эффективной поверхности сенсоров проводили с помощью уравнения Рэндлса-Шевчика:

$$I_p = (2.69 \times 10^5) n^{2/3} A D^{1/2} C v^{1/2},$$

где I_p – ток пика окисления, А; n – число переносимых электронов; A – эффективная площадь поверхности электрода, cm^2 ; D – коэффициент диффузии, cm^2/s (для $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ в 0.1 М растворе KCl $n =$

Рис. 5. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы растворов L- (а) и D-Трп (б) в фосфатном буферном растворе (рН 6.86) на СУЭ/ ПАФ/CarboblackC/[Cu(L-Ala)(L-Arg)]; концентрация энантиомеров, мМ: 1 – 0.00125, 2 – 0.025, 3 – 0.05, 4 – 0.1, 5 – 0.2, 6 – 0.4, 7 – 0.6, 8 – 0.8, 9 – 1.0; скорость сканирования потенциала 20 мВ/с.

Fig. 5. Differential-pulse voltammograms of solutions of L- (a) and D-Trp (b) in phosphate buffer solution (pH 6.86) at GCE/PAP/CarboblackC/[Cu(L-Ala)(L-Arg)]; concentration of enantiomers, mM: 1 – 0.00125, 2 – 0.025, 3 – 0.05, 4 – 0.1, 5 – 0.2, 6 – 0.4, 7 – 0.6, 8 – 0.8, 9 – 1.0; The scanning speed of the potential is 20 mV/s.

Таблица 3

Определение энантиомеров Трп на стеклоглеродном электроде, модифицированном ПАФ/CarboblackC/[Cu(L-Ala)(L-Arg)], в модельных растворах чистых энантиомеров (рН 6.86, скорость сканирования потенциала 20 мВ/с; $n = 5$; $P = 0.95$)

Table 3

Determination of Trp enantiomers on glassy carbon electrode modified with PAP/CarboblackC/[Cu(L-Ala)(L-Arg)] in model solutions of pure enantiomers (pH 6.86, potential scanning rate of 20 mV/s; $n = 5$; $P = 0.95$)

Введено, мкМ		Найдено, мкМ		S_r , %		Относит. погрешность, %	
L-Трп	D-Трп	L-Трп	D-Трп	L-Трп	D-Трп	L-Трп	D-Трп
100	100	102 ± 3	102 ± 1	2.3	0.4	1.6	1.7
500	500	506 ± 4	501 ± 4	0.6	0.7	1.2	0.1
900	900	895 ± 3	910 ± 7	0.3	0.7	0.5	1.1

Таблица 4

Определение энантиомеров Трп в присутствии мешающих компонентов на стеклоуглеродном электроде, модифицированном ПАФ/CarboblackC/[Cu(L-Ala)(L-Arg)], в растворах, содержащих вспомогательные вещества, присутствующие в лекарственных препаратах (pH 6.86, скорость сканирования потенциала 20 мВ/с; $n = 5$; $P = 0.95$)

Table 4

Determination of Trp enantiomers in the presence of interfering components on glassy carbon electrode modified with PAP/CarboblackC/[Cu(L-Ala)(L-Arg)] in solutions containing excipients present in medicinal preparations (pH 6.86, potential scanning rate of 20 mV/s; $n = 5$; $P = 0.95$)

Мешающий компонент	Введено, мкМ		Найдено, мкМ		S_r , %		Относит. погрешность, %	
	L-Трп	D-Трп	L-Трп	D-Трп	L-Трп	D-Трп	L-Трп	D-Трп
Сахароза	100	100	102 ± 3	100 ± 4	2.6	3.4	1.5	0.1
	500	500	499 ± 3	502 ± 5	0.5	0.8	0.3	0.3
	900	900	899 ± 2	903 ± 9	0.1	0.8	0.1	0.3
Крахмал	100	100	102 ± 2	104 ± 2	1.4	1.8	2.5	3.9
	500	500	491 ± 7	497 ± 3	1.1	0.5	1.7	0.6
	900	900	896 ± 2	898 ± 8	0.2	0.7	0.5	0.3
Тальк	100	100	100 ± 4	102 ± 4	3.3	3.2	0.4	2.4
	500	500	508 ± 9	506 ± 4	1.4	0.6	1.6	1.3
	900	900	905 ± 4	907 ± 1	0.4	0.1	0.6	0.7
Лактоза	100	100	99 ± 5	104 ± 3	4.4	2.6	0.8	4.0
	500	500	504 ± 9	506 ± 1	1.4	0.1	0.7	1.3
	900	900	895 ± 2	901 ± 1	0.1	0.1	0.6	0.2
Стеарат кальция	100	100	102 ± 2	103 ± 5	1.3	4.0	2.3	3.5
	500	500	496 ± 1	501 ± 1	0.1	0.1	0.7	0.1
	900	900	900 ± 1	907 ± 10	0.1	0.8	0.0	0.8
Таурин	100	100	99 ± 1	102 ± 4	0.8	3.5	0.7	2.1
	500	500	497 ± 1	502 ± 1	0.1	0.1	0.6	0.4
	900	900	899 ± 1	901 ± 1	0.1	0.1	0.1	0.1
Лизин	100	100	94 ± 1	100 ± 5	0.8	3.8	5.8	0.1
	500	500	499 ± 2	499 ± 4	0.3	0.6	0.1	0.3
	900	900	897 ± 3	899 ± 2	0.2	0.2	0.3	0.1
Аргенин	100	100	101 ± 4	102 ± 3	3.0	2.4	0.7	1.6
	500	500	497 ± 1	497 ± 1	0.2	0.1	0.6	0.7
	900	900	896 ± 3	901 ± 1	0.3	0.1	0.5	0.2
Цитруллин	100	100	100 ± 4	104 ± 6	3.3	4.6	0.4	4.0
	500	500	498 ± 1	499 ± 4	0.2	0.6	0.3	0.2
	900	900	897 ± 4	901 ± 1	0.4	0.1	0.3	0.1
Креатин	100	100	95 ± 1	102 ± 4	1.0	3.3	5.4	2.4
	500	500	500 ± 1	502 ± 1	0.2	0.1	0.1	0.4
	900	900	899 ± 2	901 ± 1	0.1	0.1	0.1	0.1
Метионин	100	100	132 ± 10	155 ± 11	6.4	5.9	32.3	55.0
	500	500	542 ± 11	577 ± 14	1.6	2.0	8.5	15.5
	900	900	960 ± 12	991 ± 12	1.0	1.0	6.6	10.5
Тирозин	100	100	45 ± 12	77 ± 10	20.4	10.5	54.5	22.7
	500	500	419 ± 10	430 ± 11	1.9	2.1	16.2	14.0
	900	900	705 ± 11	806 ± 12	1.3	1.2	21.6	10.5
Тархун	100	100	-	-	-	-	-	-
	500	500	393 ± 1	365 ± 1	0.3	0.2	21.5	26.9
	900	900	691 ± 9	700 ± 6	1.1	0.7	23.3	22.2

1, $D = 7.6 \cdot 10^{-6}$ см²/с; c – концентрация $K_4[Fe(CN)_6]$, мМ; v – скорость сканирования потенциала, В/с. Результаты расчетов представлены в табл. 2.

На рис. 5 приведены ДИВ окисления последовательно разбавленных растворов L- и D-Трп на СУЭ/ПАФ/CarboblackC/[Cu(L-Arg)(L-Ala)]. Линейный характер зависимости тока пика окисления энантиомеров Трп от их содержания в растворе сохра-

няется в концентрационном диапазоне $1.25 \cdot 10^{-6}$ до $1.00 \cdot 10^{-3}$ М согласно уравнениям (1) и (2):

$$i_p \text{ (мкА)} = (4.10 \pm 0.20) c \text{ (мМ)} + (0.35 \pm 0.01), \quad R^2 = 0.998 \text{ для L-Трп} \quad (1)$$

и

$$i_p \text{ (мкА)} = (5.53 \pm 0.30) c \text{ (мМ)} + (0.45 \pm 0.02), \quad R^2 = 0.998 \text{ для D-Трп} \quad (2)$$

Таблица 5

Определение энантиомеров Трп в моче и плазме крови человека на стеклоглеродном электроде, модифицированном ПАФ/CarboblackC/[Cu(L-Ala)(L-Arg)] (pH 6.86, скорость сканирования потенциала 20 мВ/с; $n = 5$; $P = 0.95$)

Table 5

Determination of Trp enantiomers in human urine and blood plasma on a on glassy carbon electrode modified with PAP/CarboblackC/[Cu(L-Ala)(L-Arg)], (pH 6.86, scanning potential rate of 20 mV/s; $n = 5$; $P = 0.95$)

Образец	Введено, мкМ		Найдено, мкМ		S_r , %		Относит. погрешность, %	
	L-Трп	D-Трп	L-Трп	D-Трп	L-Трп	D-Трп	L-Трп	D-Трп
Моча	100	100	94 ± 1	95 ± 1	1.2	0.7	5.6	4.7
	500	500	491 ± 2	494 ± 2	0.3	0.4	1.8	1.2
	900	900	892 ± 6	894 ± 4	0.6	0.3	0.8	0.7
Плазма	100	100	97 ± 1	97 ± 2	1.0	1.7	3.5	2.5
	500	500	494 ± 9	496 ± 4	1.5	0.6	1.2	0.8
	900	900	896 ± 11	897 ± 5	1.0	0.5	0.5	0.3

Сенсор проявляет большую чувствительность к D-Трп. Предел обнаружения (ПО) по 3 σ -критерию составляют 0.90 и 0.66 мкМ для L-Трп и D-Трп соответственно.

Правильность результатов определения энантиомеров Трп предложенным сенсором оценена методом введено-найденно (табл. 3). Установлено, что сенсор с высокой точностью позволяет определять содержание энантиомеров Трп в широком диапазоне концентраций. Относительное стандартное отклонение при определении энантиомеров Трп в модельных растворах не превышает 2.3 %.

Для оценки возможности использования данного сенсора в аналитических целях изучено влияние на правильность и воспроизводимость определения энантиомеров Трп вспомогательных веществ, входящих в состав биологически активных добавок и аминокислот, входящих в состав плазмы крови и спортивного питания (табл. 4). Вспомогательные вещества, такие как сахароза, крахмал, тальк и т.д., и неэлектроактивные аминокислоты не проявили мешающего влияния на величину аналитического сигнала. Относительное стандартное отклонение

колеблется в пределах от 0.1 до 4.6 % во всем диапазоне изучаемых концентраций. Присутствие электроактивных аминокислот и вкусовой добавки «Тархун» затрудняет определение энантиомеров Трп. Относительное стандартное отклонение достигает 20.4 % в присутствии тирозина, а относительная погрешность определения – 55.0 % в присутствии метионина, что связано с близостью потенциалов окисления электроактивных аминокислот.

По данным анализов определение энантиомеров Трп в биологических жидкостях (табл. 5) и в биологически активных добавках (табл. 6) характеризуется низкими значениями относительного стандартного отклонения (0.3-1.7 %) и относительной погрешности (0.3-5.6 %), что свидетельствуют о высокой точности определения и об отсутствии матричных эффектов. Однако, в случае образцов спортивного питания относительная погрешность при определении L-Трп заметно выше и составляет 11.2-17.9 % (табл. 6). Это связано с ранее отмеченным присутствием в спортивном питании электроактивных L-аминокислот.

Таблица 6

Определение L-Трп в лекарственных препаратах разных производителей и в спортивном питании на стеклоглеродном электроде, модифицированном ПАФ/CarboblackC/[Cu(L-Ala)(L-Arg)] (pH 6.86, скорость сканирования потенциала 20 мВ/с; $n = 5$; $P = 0.95$)

Table 6

Determination of L-Trp in medicines of different manufacturers and in sports nutrition on glassy carbon electrode modified with PAP/CarboblackC/[Cu(L-Ala)(L-Arg)] (pH 6.86, scanning potential rate of 20 mV/s; $n = 5$; $P = 0.95$)

Образец	Введено, мкМ	Найдено, мкМ	S_r , %	Относит. погрешность, %
Эвалар	500	502 ± 10	1.6	0.3
	700	699 ± 6	0.7	0.2
Scitec Nutrition	500	502 ± 3	0.5	0.4
	700	702 ± 5	0.6	0.3
Спортивное питание	100	86 ± 1	1.4	13.5
	500	444 ± 6	1.1	11.2
	900	748 ± 4	0.4	16.9

Таблица 7

Сравнение сенсора СУЭ/ПАФ/CarboblackC/[Cu(L-Ala)(L-Arg)] и описанных в литературе электрохимических сенсоров для распознавания и определения энантиомеров Трп

Table 7

Comparison of the GCE/PAP/CarboblackC/[Cu(L-Ala)(L-Arg)] sensor and electrochemical sensors described in the literature for the recognition and determination of Trp enantiomers

Сенсор	Метод	ΔE_p , мВ	I_{pL}/I_{pD}	Линейный диапазон, М / ПО, мкМ	Литература
СУЭ/ПАФ/ β -ЦД СУЭ/ПАФ/ γ -ЦД	ДИВ	10	1.18 1.19	$4 \cdot 10^{-6} - 7 \cdot 10^{-5}$ 4 7	[24]
β -ЦД-PtHCl/ГНЧ/СУЭ	ДИВ	0	1.30	$5 \cdot 10^{-5} - 5 \cdot 10^{-3}$ / 17 (L-Трп) 21 (D- Трп)	[30]
ГПЭ/НМИ	ДИВ	10	1.34	$2.5 \cdot 10^{-6} - 0.3 \cdot 10^{-3}$ / 1.71 (L-Трп) 2.23 (D-Трп)	[37]
L-Цис/Au	ЦВ	0	1.4	—	[38]
МУНТ-ГЭХтз/СУЭ	ЦВ	0	1.15	$5.0 \cdot 10^{-3} - 10 \cdot 10^{-3}$	[39]
НФ/нанолисты черного фосфора G2- β -ЦД/СУЭ	КВВ	20	1.49	$1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}$ / 1.07 (L-Трп) 1.71 (D-Трп)	[40]
УПЭ/БТФМ	КВВ	20	1.14	$1 \cdot 10^{-5} - 4 \cdot 10^{-4}$ / 1.16 (L-Трп) 2.09 (D- Трп)	[41]
СУЭ/ПАФ/CarboblackC/[Cu(L-Ala) (L-Arg)]	ДИВ	10	1.35	$1.25 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-3}$ / 0.90 (L-Трп) 0.66 (D-Трп)	В данной работе

Примечания: КВВ – квадратно-волновая вольтамперометрия; ГПЭ/НМИ – пастовый электрод на основе модифицированной 3-неоментилиденом графитированной сажи Carboblack C; L-Цис/Au – самоорганизующийся L-Цис в присутствии Cu (II) на поверхности Au электрода; МУНТ-ГЭХтз/СУЭ – СУЭ модифицированный композитом на основе многослойных УНТ и гидроксиптилхитозана; СУЭ/ПАФ/ β -ЦД, СУЭ/ПАФ/ γ -ЦД – СУЭ, модифицированный композитом на основе полиарилфталата с β - и γ -ЦД; УПЭ/БТФМ – угольно-пастовый электрод, модифицированный энантиоморфными кристаллами бромтрифенилметана; β -ЦД-PtHCl/ГНЧ/СУЭ – СУЭ, модифицированный наногибридом на основе β -ЦД, наночастиц Pt и графена; НФ/ нанолисты черного фосфора G2- β -ЦД / СУЭ – СУЭ модифицированный композитом на основе наночастиц черного фосфора, стабилизированных нафтоном и модифицированный 6-О- α -мальтозил- β -циклодекстрин.

Таким образом, нами предложен композитный вольтамперометрический сенсор СУЭ/ПАФ/CarboblackC/[Cu(L-Ala)(L-Arg)] для селективного распознавания и определения энантиомеров Трп, характеризующийся высокой чувствительностью и точностью результатов измерений. По сравнению с прочими энантиоселективными сенсорами данный композитный сенсор обладает большим линейным диапазоном концентраций и более низким пределом обнаружения Трп, при этом значение коэффициента энантиоселективности сопоставимо или превосходит аналогичный параметр некоторых известных энантиоселективных сенсоров (табл. 7). Разработанный сенсор успешно апробирован для определения энантиомеров Трп в модельных растворах чистых энантиомеров; в присутствии вспомогательных веществ, входящих в состав таблетированных форм; в присутствии электроактивных и неэлектроактивных аминокислот, вхо-

дящих в состав компонентов спортивного питания и плазмы крови человека; в реальных объектах. Проблему определения Трп в продуктах спортивного питания и смесях, содержащих сопоставимое количество электроактивных аминокислот, можно решить с применением мультисенсорных систем, состоящих из набора сенсоров с перекрестной чувствительностью, с последующей хемометрической обработкой полученных данных. Благодаря возможности варьировать чувствительность и селективность сенсоров, изменяя природу металла комплексообразователя и хиральных лигандов [28, 31], использование мультисенсорного подхода позволяет обойти ряд трудностей, связанных с близостью аналитических сигналов аналитов [24, 32-36]. Предложенный сенсор проявляет различную чувствительность к энантиомерам Трп, что позволяет использовать его в мультисенсорных системах.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-13-00169, <https://rscf.ru/project/21-13-00169/>.

ACKNOWLEDGEMENTS

The study was supported by a grant from the Russian Science Foundation No. 21-13-00169, <https://rscf.ru/project/21-13-00169/>.

ЛИТЕРАТУРА

- Quantitation of Neurotoxic Metabolites of the Kynurenine Pathway by Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry (LDI-MS) / P. Lahiri [et al.] // *Metabolomics*. 2019. V. 1996. P. 113-129.
- Изменения содержания триптофана и его метаболитов у детей с ранним детским аутизмом / А.С. Горина [и др.] // *Бюллетень СО РАМН*. 2010. Т. 30, № 5. С. 19-24.
- Inflammation-Induced Tryptophan Breakdown is Related With Anemia, Fatigue, and Depression in Cancer / L. Lanser [et al.] // *Front. Immunol.* 2020. V. 11. P. 249-270.
- Predictive and prognostic role of serum neopterin and tryptophan breakdown in prostate cancer / R. Pichler [et al.] // *Cancer Sci.* 2017. V. 108. P. 663-670.
- MYC promotes tryptophan uptake and metabolism by the kynurenine pathway in colon cancer / N. Venkateswaran [et al.] // *Genes Dev.* 2019. V. 33. P. 1236-1251.
- Tryptophan degradation in autoimmune disease / C.A. Opitz [et al.] // *J. Cell. Mol. Life Sci.* 2007. V. 64. P. 2542-2563.
- A potential role for AHR in SARS-CoV-2 pathology / F. Giovannoni [et al.] // *Res. Sq.* 2020. V. 3. P. 25639. (Preprint № 14. P. e140327 № 14. P. e140327rint)
- Competing endogenous RNA network profiling reveals novel host dependency factors required for MERS-CoV propagation / X. Zhang [et al.] // *Emerg. Microb. Infect.* 2020. V. 9. P. 733-746.
- COVID-19 infection alters kynurenine and fatty acid metabolism, correlating with IL-6 levels and renal status / T. Thomas [et al.] // *JCI Insight*. 2020. V. 5. № 14. P. e140327
- Гецина М.Л., Черневская Е.А., Белобородова Н.В. Роль общих для человека и микробиоты метаболитов триптофана при тяжелых заболеваниях и критических состояниях (обзор) // *Клиническая практика*. 2020. Т. 11, № 1. С. 92-102.
- NMR spectroscopic detection of chirality and enantiopurity in referenced systems without formation of diastereomers / J. Labuta [et al.] // *Nat. Commun.* 2013. V. 4. P. 2188-2195.
- Enantioselective open-tubular capillary electrochromatography using cyclodextrin-modified gold nanoparticles as stationary phase / M. Li [et al.] // *J. Chromatogr. A*. 2011. V. 1218. P. 3725-3729.
- Simultaneous determination of tryptophan, kynurenine and 5-hydroxytryptamine by HPLC: application in uremic patients undergoing hemodialysis / Q.N. Zhen [et al.] // *Clin. Biochem.* 2011. V. 44. P. 226-230.
- Method development and optimization on cinchona and chiral sulfonic acid-based zwitterionic stationary phases for enantiomer separations of free amino acids by high-performance liquid chromatography / T. Zhang [et al.] // *J. Chromatogr. A*. 2014. V. 1363. P. 191-199.
- Taujenis L., Olsauskaite V., Padarauskas A. Enantioselective determination of protein amino acids in fertilizers by liquid chromatography-tandem mass spectrometry on chiral teicoplanin stationary phase // *J. Agric. Food Chem.* 2014. V. 62. P. 11099-11108.
- Fluorescence determination of D- and L-tryptophan concentrations in rat plasma following administration of tryptophan enantiomers using HPLC with pre-column derivatization / H. Iizuka [et al.] // *J. Chromatogr. B*. 2011. V. 879. P. 3208-3213.
- Chiral discrimination between D- and L-tryptophan based on the alteration of the fluorescence lifetimes by the chiral additives / Y.L. Wei [et al.] // *Talanta*. 2010. V. 81. P. 1800-1805.
- Майстренко В.Н., Евтюгин Г.А., Зильберг Р.А. Энантиоселективные вольтамперометрические сенсоры. Уфа: РИЦ БашГУ, 2018. 188 с.
- Майстренко В.Н., Зильберг Р.А. Энантиоселективные вольтамперометрические сенсоры на основе хиральных материалов // *Журн. аналит. химии*. 2020. Т. 75, № 12. С. 1080-1096.
- Application of chiral materials in electrochemical sensors / X. Niu [et al.] // *Microchim. Acta*. 2020. V. 187. P. 1-18.
- Майстренко В.Н., Сидельников А.В., Зильберг Р.А. Энантиоселективные вольтамперометрические сенсоры: новые решения // *Журн. аналит. химии*. 2018. Т. 73, № 1. С. 3-13.
- Perylene-functionalized graphene sheets modified with chitosan for voltammetric discrimination of tryptophan enantiomers / X. Yang [et al.] // *Microchim. Acta*. 2019. V. 186, № 6. P. 333-345.
- Synergistic effects of chitosan and DNA self-assembly films on the chiral discrimination of tryptophan enantiomers / Y.X. Sun [et al.] // *Microchem. J.* 2021. V. 165. P. 106118.
- Энантиоселективная вольтамперометрическая сенсорная система для распознавания D- и L-триптофана на основе стеклоуглеродных электродов, модифицированных композициями полиарилефталата с α -, β - и γ -циклодекстринами / Р.А. Зильберг [и др.] // *Журн. аналит. хим.* 2019. Т. 74, № 12. С. 941-952.
- Electrochemical recognition of tryptophan enantiomers using a multi-walled carbon nanotube@polydopamine composite loaded with copper (II) / J. Qian, [et al.] // *Microchim. Acta*. 2019. V. 186, № 6. P. 358-366.
- A Highly Effective Electrochemical Chiral Sensor of Tryptophan Enantiomers Based on Covalently Functionalized Reduced Graphene Oxide with L-Lysine / H. Gou [et al.] // *J. Electrochem. Soc.* 2016. V. 163, № 7. P. B272-B279.
- Electrochemically Recognizing Tryptophan Enantiomers based on Carbon Black/Poly-L-Cysteine Modified Electrode / O.J. Kingsford [et al.] // *J. Electrochem. Soc.* 2019. V. 166, № 13. P. B1226-B1231.
- «Молекулярные и биологические аспекты химии, фармацевтики и фармакологии»: сборник тез. докл. Шестой Междисциплинарной конференции. под редакцией К.В. Кудрявцева и Е.М. Паниной. М., 2020. 266 с.
- Berestova T.V., Khursan S.L., Mustafin A.G. Experimental and theoretical substantiation of differences of geometric isomers of copper(II) α -amino acid chelates in ATR-FTIR spectra // *Spectrochim. Acta A*. 2020. V. 229. № 117950.
- Zou J, Yu JG. Nafion-stabilized black phosphorus nanosheets/maltosyl- β -cyclodextrin as a chiral sensor for tryptophan enantiomers // *Mater. Sci. Eng. C*. 2020. V. 112. P.110910.
- Вольтамперометрическое определение энантиомеров тирозина в фармацевтических и биологических образцах / Р.А. Зильберг [и др.] // *Вестник Башкирского университета*. 2021. Т. 26, № 1. С. 84-92.
- Вольтамперометрические сенсоры на основе композитов полиэлектролитного комплекса хитозана и α -, β - и γ -циклодекстринов для определения и распознавания

энантиомеров метионина / Р.А. Зильберг [и др.] // Вестник Башкирского университета. 2018. Т. 23, № 3. С. 721-727.

33. A voltammetric sensory system for recognition of propranolol enantiomers based on glassy carbon electrodes modified by polyarylenephthalide composites of melamine and cyanuric acid / R.A. Zilberg [et al.] // *Electroanalysis*. 2018. V. 30, № 4. P. 619-625.

34. Selective voltammetric sensors based on composites of chitosan polyelectrolyte complexes with cyclodextrins for the recognition and determination of atenolol enantiomers / R.A. Zilberg [et al.] // *Anal. Methods*. 2018. V. 10, № 16. P. 1886-1894.

35. Хемометрические подходы при обработке вольтамперограмм энантиомеров тирозина / Л.П. Кабирова [и др.] // Доклады Башкирского университета. 2019. Т. 4, № 4. С. 369-372.

36. Энантиоселективный вольтамперометрический сенсор для распознавания стереоизомеров пропранолола / А.В. Сидельников [и др.] // Журн. аналит. химии. 2017. Т. 72, № 5. С. 486-492.

37. Novel chiral voltammetric sensor for tryptophan enantiomers based on 3-neomenthylindene as recognition element / L.R. Zagitova [et al.] // *J. Electroanal. Chem.* 2021. V. 880. P. 114939.

38. Electrochemical enantioselective recognition of tryptophan enantiomers based on chiral ligand exchange / Q. Chen [et al.] // *Colloids Surf. B*. 2012. V. 92. P. 130-135.

39. Electrochemical enantioselective recognition of tryptophan enantiomers based on a multi-walled carbon nanotube-hydroxyethyl chitosan composite film / Z. Li [et al.] // *Anal. Methods*. 2017. V. 9, № 35. P. 5149-5155.

40. Chiral recognition of tryptophan enantiomers based on β -cyclodextrin-platinum nanoparticles/graphene nanohybrids modified electrode / J. Xu [et al.] // *Electroanalysis*. 2016. V. 28. P. 868-873.

41. Сенсор для распознавания и определения энантиомеров триптофана на основе модифицированного энантиоморфными кристаллами бромтрифенилметана угольно-пастового электрода / Ю.А. Яркаева [и др.] // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № 11. С. 1038-1048.

REFERENCES

- Lahiri P., Dhaware D., Singh A., Panchagnula V., Ghosh D. Quantitation of Neurotoxic Metabolites of the Kynurenine Pathway by Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry (LDI-MS). *Metabolomics*, 2019, vol. 1996, pp. 113-129. DOI: 10.1007/978-1-4939-9488-5_11
- Gorina A.S., Kulinskiy V.I., Kolesnichenko L.S., Mikhnovich V.I. [Changes in the content of tryptophan and its metabolites in children with early childhood autism]. [*Bulletin of the SB RAMS*], 2010, vol. 30, no 5, pp. 19-24 (in Russian).
- Lanser L., Kink P., Egger E. M., Willenbacher W., Fuchs D., Weiss G., Kurz K. Inflammation-Induced Tryptophan Breakdown is Related With Anemia, Fatigue, and Depression in Cancer. *Front. Immunol.*, 2020, vol. 11, pp. 249-270. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00249
- Pichler R., Fritz J., Heidegger I., Steiner E., Culig Z., Klocker H., Fuchs D. Predictive and prognostic role of serum neopterin and tryptophan breakdown in prostate cancer. *Cancer Sci.*, 2017, vol. 108, pp. 663-670. DOI: 10.1111/cas.13171
- Venkateswaran N., Lafita-Navarro M.C., Hao Y.H., Kilgore J., Perez-Castro L., Braverman J., Borenstein-Auerbach N., Kim M., Lesner N.P., Mishra P., Brabletz T., Shay J., DeBerardinis R., Williams N., Yilmaz O., Conacci-Sorrell M. MYC promotes tryptophan uptake and metabolism by the kynurenine pathway in colon cancer. *Genes Dev.*, 2019, vol. 33, pp. 1236-1251. DOI: 10.1101/gad.327056.119
- Opitz C.A., Wick W., Steinman L., Platten M. Tryptophan degradation in autoimmune disease. *J. Cell. Mol. Life Sci.*, 2007, vol. 64, pp. 2542-2563. DOI:10.1007/s00018-007-7140-9
- Giovannoni F., Li Z., Garcia C.C., Quintana F.J. A potential role for AHR in SARS-CoV-2 pathology. *Res. Sq.*, 2020, vol. 3, pp. 25639. DOI: 10.21203/rs.3.rs-25639/v1
- Zhang X., Chu H., Wen L., Shuai H., Yang D., Wang Y., Hou Y., Zhu Z., Yuan S., Yin F., Chan J.F.W., Yuen K.Y. Competing endogenous RNA network profiling reveals novel host dependency factors required for MERS-CoV propagation. *Emerg. Microb. Infect.*, 2020, vol. 9, pp. 733-746. DOI: 10.1080/22221751.2020.1738277
- Thomas T., Stefanoni D., Reisz J.A., Nemkov T., Bertolone L., Francis R.O., Hudson K.E., Zimring J.C., Hansen K.C., Hod E.A., Spitalnik S. J., D'Alessandro A. COVID-19 infection alters kynurenine and fatty acid metabolism, correlating with IL-6 levels and renal status. *JCI Insight*, 2020, vol. 5, no. 14, pp. e140327. DOI: 10.1172/jci.insight.140327
- Getsina M.L., Chernevska E.A., Beloborodova N.V. [The role of tryptophan metabolites common for humans and microbiota in severe diseases and critical conditions (review)]. [*Clinical practice*], 2020, vol. 11, no. 1, pp. 92-102. (in Russian) DOI: <https://doi.org/10.17816/clinpract19068>.
- Labuta J., Ishihara S., Šikorský T., Futera Z., Shundo A., Hanykova L., Burda J.V., Ariga K., Hill J. PNMR spectroscopic detection of chirality and enantiopurity in referenced systems without formation of diastereomers. *Nat. Commun.*, 2013, vol. 4, pp. 2188-2195. DOI: 10.1038/ncomms3188
- Li M., Liu X., Jiang F., Guo L., Yang L. Enantioselective open-tubular capillary electrochromatography using cyclodextrin-modified gold nanoparticles as stationary phase. *J. Chromatogr. A*, 2011, vol. 1218, pp. 3725-3729. DOI: 10.1016/j.chroma.2011.04.045
- Zhen Q., Xu B., Ma L., Tian G., Tang X., Ding M. Simultaneous determination of tryptophan, kynurenine and 5-hydroxytryptamine by HPLC: application in uremic patients undergoing hemodialysis. *Clin. Biochem.*, 2011, vol. 44, pp. 226-230. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2010.10.011
- Zhang T., Holder E., Franco P., Lindner W. Method development and optimization on cinchona and chiral sulfonic acid-based zwitterionic stationary phases for enantiomer separations of free amino acids by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 2014, vol. 1363, pp. 191-199. DOI: 10.1016/j.chroma.2014.06.012
- Taujenis L., Olsauskaite V., Padarauskas A. Enantioselective determination of protein amino acids in fertilizers by liquid chromatography-tandem mass spectrometry on chiral teicoplanin stationary phase. *J. Agric. Food Chem.*, 2014, vol. 62, pp. 11099-11108. DOI: 10.1021/jf5047333
- Iizuka H., Ishii K., Hirasa Y., Kubo K., Fukushima T. Fluorescence determination of D- and L-tryptophan concentrations in rat plasma following administration of tryptophan enantiomers using HPLC with pre-column derivatization. *J. Chromatogr. B*, 2011, vol. 879, pp. 3208-3213. DOI: 10.1016/j.jchromb.2011.02.014
- Wei Y., Wang S., Shuang S., Dong C. Chiral discrimination between D- and L-tryptophan based on the alteration of the fluorescence lifetimes by the chiral additives. *Talanta*, 2010, vol. 81, pp. 1800-1805. DOI: 10.1016/j.talanta.2010.03.044
- Maistrenko V.N., Evtyugin G.A., Zilberg R.A. *Enantioselektivnye vol'tamperometricheskie sensory* [Enantioselective voltammetric sensors]. Ufa, Izdatel'stvo BashGU, 2018. 188 p. (in Russian).
- Maistrenko V. N., Zilberg R. A. Enantioselective voltammetric sensors on the basis of chiral materials. *J. Anal. Chem.*, 2020, vol. 75, no. 12, pp. 1514-1526. DOI: 10.1134/S1061934820120102

20. Niu X., Yang X., Li H., Liu J., Liu Z., Wang K. Application of chiral materials in electrochemical sensors. *Microchim. Acta.*, 2020, vol. 187, pp. 1-18. DOI:10.1007/s00604-020-04646-4
21. Maistrenko V.N., Sidelnikov A.V., Zilberg R. A. Enantioselective voltammetric sensors: new solutions. *J. Anal. Chem.*, 2018, vol. 73, no. 1, pp. 1-9. DOI: 10.1134/S1061934818010057
22. Yang X., Niu X., Mo Z., Guo R., Liu N., Zhao P., Liu Z. Perylene-functionalized graphene sheets modified with chitosan for voltammetric discrimination of tryptophan enantiomers. *Microchim. Acta.*, 2019, vol.186, no. 6, pp. 333-345. DOI: 10.1007/s00604-019-3442-5
23. Suna Y.X., Hea J.H., Zhang D.D., Sheng Y., Xu D., Zhang R., Bradley M. Synergistic effects of chitosan and DNA self-assembly films on the chiral discrimination of tryptophan enantiomers. *Microchem. J.*, 2021, vol. 165, pp. 106118. DOI:10.1016/j.microc.2021.106118
24. Zilberg R.A., Maistrenko V.N., Yarkaeva Yu.A., Dubrovskii D.I. An Enantioselective Voltammetric Sensor System Based on Glassy Carbon Electrodes Modified by Polyarylenephthalide Composites with α -, β , and γ -Cyclodextrins for Recognizing D- and L-Tryptophans. *J. Anal. Chem.*, 2019, vol. 74, no. 12, pp. 1245–1255. DOI:10.1134/s1061934819110133
25. Qian J., Yi Y., Zhang D., Zhu G. Electrochemical recognition of tryptophan enantiomers using a multi-walled carbon nanotube@polydopamine composite loaded with copper (II). *Microchim. Acta.*, 2019, vol. 186, no. 6, pp. 358-366. DOI: 10.1007/s00604-019-3469-7
26. Gou H., He J., Mo Z., Wei X., Hu R., Wang Y., Guo R. A Highly Effective Electrochemical Chiral Sensor of Tryptophan Enantiomers Based on Covalently Functionalized Reduced Graphene Oxide with L-Lysine. *J. Electrochem. Soc.*, 2016, vol. 163, no. 7, pp. B272-B279. DOI: 10.1149/2.0361607jes
27. Kingsford O.J., Zhang D., Ma Y., Wu Y., Zhu G. Electrochemically Recognizing Tryptophan Enantiomers based on Carbon Black/Poly-L-Cysteine Modified Electrode. *J. Electrochem. Soc.*, 2019, vol. 166, no. 13, pp. B1226–B1231. DOI: 10.1149/2.0791913jes
28. Zilberg R. A., Zagitova L. R., Yarkaeva Yu. A., Maistrenko V. N. Composite sensors based on glass-carbon electrodes modified with amino acid complexes of transition metals for selective recognition and determination of enantiomers of biologically active substances. *Molecular and biological aspects of chemistry, pharmacy and pharmacology. Collection of abstracts of the Sixth Interdisciplinary Conference. Edited by K. V. Kudryavtsev and E. M. Panina*, Moscow, 2020. (in Russian).
29. Berestova T.V., Khursan S.L., Mustafin A.G. Experimental and theoretical substantiation of differences of geometric isomers of copper(II) α -amino acid chelates in ATR-FTIR spectra. *Spectrochim. Acta A.*, 2020, vol. 229, no. 117950. DOI: 10.1016/j.saa.2019.117950
30. Zou J., Yu J.G. Nafion-stabilized black phosphorus nanosheets/maltosyl- β -cyclodextrin as a chiral sensor for tryptophan enantiomers. *Mater. Sci. Eng. C.*, 2020, vol. 112, pp. 110910. DOI: 10.1016/j.msec.2020.110910
31. Zilberg R.A., Karimova G.R., Terenteva A.S., Teres Yu.B., Yarkaeva Yu. A., Maistrenko V. N. [Voltammetric determination of tyrosine enantiomers in pharmaceutical and biological samples]. *Vestn. Bashk. Univ.*, 2021, vol. 26, no. 1, pp. 84-92. DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2021.1.14 (in Russian)
32. Dubrovsky D.I., Kabirova L.R., Khabletdinova A.I., Zilberg R.A., Maistrenko V.N. [Voltammetric sensors based on composites of the polyelectrolyte complex of chitosan and α -, β , and γ -cyclodextrins for the determination and recognition of methionine enantiomers]. *Vestn. Bashk. Univ.*, 2018, vol. 23, no. 3, pp. 721-727. (in Russian).
33. Zilberg R.A., Sidelnikov A.V., Maistrenko V.N., Yarkaeva Yu.A., Khamitov E.M., Maksutova E.I., Kornilov V.M. A voltammetric sensory system for recognition of propranolol enantiomers based on glassy carbon electrodes modified by polyarylenephthalide composites of melamine and cyanuric acid. *Electroanalysis*, 2018, vol. 30, no. 4, pp. 619-625. DOI: 10.1002/elan.201700404
34. Zilberg R.A., Maistrenko V.N., Kabirova L.R., Dubrovsky D.I. Selective voltammetric sensors based on composites of chitosan polyelectrolyte complexes with cyclodextrins for the recognition and determination of atenolol enantiomers. *Anal. Methods*, 2018, vol. 10, no. 16, pp. 1886-1894. DOI: 10.1039/c8ay00403j
35. Kabirova L.R., Dubrovsky D.I., Nikonova N.A., Zilberg R.A., Maistrenko V.N. [Chemometric approaches in the treatment of tyrosine enantiomers voltammograms]. *Doklady Bashkirskogo universiteta [Reports of the Bashkir University]*, 2019, vol. 4, no. 4, pp. 369-372. DOI: 10.33184/dokbsu-2019.4.1 (in Russian).
36. Sidelnikov A.V., Maistrenko V.N., Zilberg R.A., Yarkaeva Yu.A., Khamitov E.M. Enantioselective voltammetric sensor for recognition of propranolol stereoisomers. *J. Anal. Chem.*, 2017, vol. 72, no. 5, pp. 575-581. DOI: 10.1134/S1061934817050112
37. Zagitova L.R., Maistrenko V.N., Yarkaeva Yu.A., Zagitov V.V., Zilberg R.A., Kovyazin P.V., Parfenova L.V. Novel chiral voltammetric sensor for tryptophan enantiomers based on 3-neomenthylindene as recognition element. *J. Electroanal. Chem.*, 2021, vol. 880, p. 114939. DOI: 10.1016/J.JELECHEM.2020.114939
38. Chen Q., Zhou J., Han Q., Wang Y., Fu Y. Electrochemical enantioselective recognition of tryptophane enantiomers based on chiral ligand exchange. *Colloids Surf. B*, 2012, vol. 92, pp.130-135. DOI: 10.1016/j.colsurf.2011.11.031
39. Li Z., Mo Z., Guo R., Meng S., Wang R., Gao H., Niu X. Electrochemical enantioselective recognition of tryptophan enantiomers based on a multi-walled carbon nanotube-hydroxyethyl chitosan composite film. *Anal. Methods*, 2017, vol. 9, no. 35, pp. 5149–5155. DOI:10.1039/C7AY01775H
40. Xu J., Wang Q., Xuan C., Xia Q., Lin X., Fu Y. Chiral recognition of tryptophan enantiomers based on β -cyclodextrin-platinum nanoparticles/graphene nanohybrids modified electrode. *Electroanalysis*, 2016, vol. 28, pp. 868-873 DOI:10.1002/elan.201500548
41. Yarkaeva Yu.A., Islamuratova E.N., Zagitova L.R., Guskov V.Yu., Zilberg R.A., Maistrenko V.N. [Sensor for recognition and determination of tryptophan enantiomers based on a carbon-paste electrode modified by enantiomorphous bromotriphenylmethane crystals]. *J. Anal. Chem.*, 2021, vol. 76, no. 11, pp. 1038-1048. (in Russian). DOI: 10.31857/S0044450221110177