раздел ХИМИЯ

УДК 543.552.054.1

DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2021.4.4

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ СЕНСОР НА ОСНОВЕ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНОГО КОМПЛЕКСА И АМИНОКИСЛОТНОГО КОМПЛЕКСА МЕДИ (II) ДЛЯ РАСПОЗНАВАНИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭНАНТИОМЕРОВ ТИРОЗИНА**© Р. А. Зильберг*, Ю. Б. Терес, Л. Р. Загитова,
А. А. Жигалова, А. А. Ибрагимова***Бакирский государственный университет
Россия, Республика Башкортостан, 450076 г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32.**Тел.: +7 (347) 229 97 12.***Email: ZilbergRA@yandex.ru*

Разработан вольтамперометрический сенсор на основе стеклоуглеродного электрода, модифицированного композитом полиэлектrolитного комплекса хитозана и сукцинилхитозана с аминокислотным комплексом меди (II) [Cu(L-Phe)(Gly)] для распознавания и определения энантиомеров тирозина. По данным циклической вольтамперометрии и спектроскопии электрохимического импеданса рассчитаны площадь эффективной поверхности предложенного композитного сенсора ($A = 2.05 \pm 0.13 \text{ мм}^2$) и значения сопротивления переноса электронов ($R_{et} = 14.7 \pm 0.3 \text{ кОм}$). Изучены электрохимические и аналитические характеристики разработанного сенсора при регистрации линейных вольтамперограмм энантиомеров тирозина. Предел обнаружения, рассчитанный по 3s-критерию, для D-энантиомера составляет $1.80 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, для L-энантиомера – $1.67 \cdot 10^{-5} \text{ М}$. Наибольшую чувствительность предложенный сенсор проявляет к D-энантиомеру. Разработанный сенсор апробирован для определения L- и D-Тир в модельных растворах чистых энантиомеров в биологических жидкостях. Относительное стандартное отклонение при определении энантиомеров Тир во всех случаях не превышает 5.16%, а относительная погрешность измерений – 3.93%.

Ключевые слова: вольтамперометрия, модифицированные электроды, энантиомеры, аминокислотный комплекс меди (II), тирозин, полиэлектrolитный комплекс хитозана и сукцинилхитозана, биологические жидкости, смесь энантиомеров.

Введение

Важность определения энантиомеров действующих веществ различных фармацевтических препаратов и биологически активных добавок неоднократно продемонстрирована на самых разных объектах [1]. Для определения энантиомеров широко применяют хроматографические методы [2–8], флуориметрию [9], спектrophотометрию [10–12], капиллярный электрофорез [13–17] и др. Однако почти все эти методы требуют длительной пробоподготовки, дорогостоящего оборудования и наличия персонала с высокой квалификацией. Исключением являются электрохимические методы анализа, которые характеризуются низкой стоимостью, экспрессностью, высокой точностью и чувствительностью, простотой выполнения эксперимента [18–38] и могут применяться для идентификации аналитов в смесях сложного состава, в т.ч. и в биологических жидкостях.

В последнее время в составах биологически активных добавок, диетического и спортивного питания [39] все шире применяются L-аминокислоты и их производные, например, тирозин (Тир), триптофан, L-карнитин, креатин. В силу этого большое значение приобретает контроль содержания аминокислот как в самих препаратах, так и в организме. Например, бесконтрольное потребление Тир, являющегося прекурсором для ряда нейромедиаторов – дофамин, тироксин, адреналин и меланин [40–41], вызывает проблемы в работе надпочечников, щитовидной железы, гипофиза, создании

красных и белых кровяных телец, синтезе меланина; способно привести к повышенной агрессивности, раздражительности и депрессии [42–44]. С другой стороны, у людей, страдающих фенилкетонурией наблюдается дефицит Тир в организме. Также показано, что отношение концентраций [DOPA] / [Тир] является специфическим маркером развития меланомы [45].

Поэтому целью данного исследования явилось изучение возможностей энантиоселективного сенсора на основе стеклоуглеродного электрода (СУЭ), модифицированного композитом полиэлектrolитного комплекса хитозана и сукцинилхитозана (ПЭК) с аминокислотным комплексом меди (II) [Cu(L-Phe)(Gly)] для распознавания и определения энантиомеров Тир в модельных растворах L- и D-Тир, биологических жидкостях и смеси энантиомеров.

Экспериментальная часть

Электрохимические измерения проводили в стандартной трехэлектродной ячейке, состоящей из немодифицированного или модифицированного СУЭ диаметром 3 мм в качестве рабочего электрода, платиновой пластинки площадью 200 мм^2 в качестве вспомогательного электрода и хлоридсеребряного электрода (Ag/AgCl (3.5 МKCl)) в качестве электрода сравнения. Линейные вольтамперограммы регистрировали на потенциостате/гальваностате ЭЛИНС с программным обеспечением PS-Pack 2 в

диапазоне потенциалов от 0 до 1.4 В и скоростью сканирования 100 мВ/с. Регистрацию циклических вольтамперограмм (ЦВА) проводили с помощью потенциостата/гальваностата AUTOLABPGSTAT 204 в диапазоне потенциалов от 0.6 до 1.4 В со скоростью сканирования 100 мВ/с. Импедиметрические измерения проводили на импедансметре AUTOLAB PGSTAT204 в стандартной трехэлектродной ячейке. Спектры импеданса регистрировали в диапазоне частот переменного тока от 500 КГц до 0.1 Гц с амплитудой 5 мВ.

Реагенты и растворы. Эквимольный раствор $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (5 мМ), приготовленный на фоне 0.1 М KCl, выступал в качестве стандартного при электрохимических измерениях. Для хранения стандартный раствор помещали в темное место без доступа света. В качестве исследуемых образцов использовали L- и D-Тир (Sigma-Aldrich(США)), приготовленные на фоне индифферентного электролита – фосфатного буферного раствора с $\text{pH}=6.86$ ($\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$). Буферный раствор готовили путем растворения содержимого фиксатора деионизированной водой в мерной колбе. Стандартные растворы L- и D-Тир (0.001 М) получали растворением точных навесок в колбах объемом 50 мл фосфатным буферным раствором (0.1 М). Растворы более низких концентраций получали разбавлением исходных растворов.

Все эксперименты с использованием биологических жидкостей проводили в соответствии с действующим законодательством. Для сбора мочи было получено письменное согласие донора. Свежезамороженная плазма крови ($\text{A}(\text{II})\text{Rh}^+$) здорового человека приобретена в Государственном бюджетном учреждении здравоохранения «Республиканская станция переливания крови» в г. Уфе. Плазма крови прошла тесты на АТ/АГ Вич, HBsAg, Анти-ВГС сифилис, результаты отрицательны. Перед проведением исследований образцы мочи и предварительно размороженной плазмы крови объемом 2.5 мл центрифугировали в течение 10 мин, затем разбавляли фосфатным буферным раствором (pH 6.86) в колбе на 25 мл. В полученные растворы добавляли известные количества D- и L-Тир для получения растворов с концентрацией 0.04, 0.08, 0.3 мМ. Регистрацию вольтамперограмм проводили в линейном режиме при рабочих условиях, установленных для регистрации чистых энантиомеров Тир.

Модифицирование стеклоуглеродного электрода. Поверхность СУЭ очищали с помощью эмульсии оксида алюминия (0.3 мкм) на полировочном материале Spec-Cloth Adhesive black disc (200 мм) (AlliedHighTechProductsInc. (США)) до зеркального блеска, с последующим многократным ополаскиванием поверхности деионизированной водой для удаления микрочастиц Al_2O_3 . Подготовленную поверхность высушивали на воздухе.

Для модифицирования СУЭ в качестве основы композита использовали ПЭК, получаемый из натриевой соли N-сукцинил-хитозана (полианион) и раствора гидрохлорида хитозана (поликатион). Солянокислый раствор хитозана получали растворением в 50 мл 1% соляной кислоты 0.25 г хитозана (молекулярная масса 30 кДа, степень деацетилирования 75%). После высушивания солянокислого раствора хитозана в сушильном шкафу образовывался гидрохлорид хитозана в виде пленки. Раствор N-сукцинил-хитозана готовили путем растворения навески массой 0.09 г в 18 мл воды с последующим выдерживанием в ультразвуковой ванне в течение 30 мин и фильтрованием. Гидрохлорид хитозана массой 0.01 г растворяли в 2 мл воды, выдерживая в ультразвуковой ванне в течение 3 мин.

Водные дисперсии ПЭК получали путем добавления к 10 мл водного раствора N-сукцинил-хитозана по каплям 1 мл водного раствора гидрохлорида хитозана при интенсивном перемешивании (500 об./мин) и температуре 25 °С с интервалом между введением порций 2 мин.

Аминокислотный комплекс меди (II) $[\text{Cu}(\text{L-Phe})(\text{Gly})]$, используемый в качестве хирального селектора, получен по методике, описанной в работе [46].

Для получения композита полиэлектролитного комплекса с аминокислотным комплексом меди (II), навеску комплекса $[\text{Cu}(\text{L-Phe})(\text{Gly})]$ массой 0.002 г растворяли в 2 мл ПЭК, выдерживая в ультразвуковой ванне 6 мин с последующим фильтрованием.

Для модифицирования СУЭ 6 мкл раствора ПЭК с введенным в него аминокислотным комплексом меди(II) $[\text{Cu}(\text{L-Phe})(\text{Gly})]$ наносили на подготовленную поверхность и испаряли растворитель под инфракрасной лампой (250 Вт). После каждого анализа поверхность рабочего электрода регенерировали.

Результаты и их обсуждение

Для характеристики свойств электрода, модифицированного ПЭК и ПЭК/ $[\text{Cu}(\text{L-Phe})(\text{Gly})]$, были проведены вольтамперометрические и импедиметрические исследования в стандартном растворе $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (5 мМ). Регистрацию вольтамперограмм проводили как на немодифицированном СУЭ, так и на модифицированном ПЭК и ПЭК/ $[\text{Cu}(\text{L-Phe})(\text{Gly})]$. Результаты проведенных исследований представлены на рис. 1.

ЦВА (рис. 1а) описывают типичный одноэлектронный обратимый окислительно-восстановительный процесс редокс-пары $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. Из рисунка видно, что после модифицирования поверхности электрода пленкой ПЭК с введенным в него аминокислотным комплексом меди (II) $[\text{Cu}(\text{L-Phe})(\text{Gly})]$ токи пика окислительно-восстановительной пары $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ уменьшаются по сравнению с немодифицированным СУЭ, что обусловлено увеличением сопротивления переноса заряда в результате модифицирования.

Рис. 1. Циклические вольтамперограммы (а) и диаграммы Найквиста (б) 5.0 мМ раствора редокс-пары $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ на различных электродах: 1 – СУЭ; 2 – СУЭ/ПЭК/[Cu(L-Phe)(Gly)]; 3 – СУЭ/ПЭК.

Диаграммы Найквиста (рис. 1б) показывают, что при нанесении пленки ПЭК на поверхность электрода происходит замедление процесса переноса электрона по сравнению с немодифицированным СУЭ. Электрод, модифицированный ПЭК, имеет наименьшую электропроводность, а СУЭ/ПЭК/[Cu(L-Phe)(Gly)] занимает промежуточное положение (табл. 1).

Оценена эффективная площадь поверхности немодифицированного и модифицированных СУЭ с помощью ЦВА при скорости сканирования потенциала 100 мВ/с для 5.0 мМ раствора $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ в 0.1 М КСl. В условиях ЦВА для обратимого электродного процесса площадь поверхности электрода рассчитана с использованием 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 электронов; A – площадь поверхности электрода (см^2); D – коэффициент диффузии ($\text{см}^2/\text{с}$); C – концентрация $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (моль/ см^3); v – скорость сканирования (В/с). Для $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ в 0.1 М растворе КСl $n = 1$, $D = 7.6 \times 10^{-6} \text{ см}^2/\text{с}$. Эффективная площадь поверхности модифицированных СУЭ незначительно уменьшается по сравнению с немодифицированным электродом (табл. 1).

Известно, что на СУЭ Тир необратимо окисляется в кислой и нейтральной средах [37–38] с переносом двух электронов в диапазоне потенциалов 0.6 ÷ 0.9 В с образованием на вольтамперограммах хорошо выраженного пика (рис. 2). Из приведенных вольтамперограмм видно, что при нанесении только полиэлектrolитного комплекса хитозана и сукцинилхитозана наблюдается небольшое различие в высоте пиков окисления энантиомеров Тир (рис. 2б). Это свидетельствует о том, что данный ПЭК проявляет небольшую энантиоселективность по отношению к энантиомерам Тир за счет своих функциональных групп.

Таблица 1

Площадь эффективной поверхности и значения сопротивления переноса электронов по данным циклической вольтамперометрии и спектроскопии электрохимического импеданса на фоне фосфатного буферного раствора с рН 6.86 при скорости сканирования 100 мВ/с ($n=5$, $P=0.95$)

Электрод	A , мм^2	R_{et} , кОм
СУЭ	2.38 ± 0.09	5.3 ± 0.1
СУЭ/ПЭК	1.12 ± 0.09	21.9 ± 0.4
СУЭ/ПЭК/[Cu(L-Phe)(Gly)]	2.05 ± 0.13	14.7 ± 0.3

Введение в состав композитного сенсора на основе ПЭК комплекса меди [Cu(L-Phe)(Gly)] приводит к повышению энантиоселективности сенсора ($\Delta i_p = 1.65 \text{ мкА}$, $i_p(\text{D})/i_p(\text{L}) = 1.28$, $\Delta E_p = 30 \text{ мВ}$) (рис. 2в), что согласуется с известными данными по изменению энантиоселективности базовых сенсоров типа СУЭ/ПЭК включающих дополнительные хиральные селекторы [28–29; 32–33; 36–38].

Для установления природы токов исследована зависимость максимальных токов пика от скорости сканирования потенциала в диапазоне от 10 до 750 мВ/с (рис. 3). По линейной зависимости токов пика окисления (i_p) от квадратного корня скорости сканирования потенциала ($v^{1/2}$) можно сделать вывод, что электродный процесс окисления Тир на СУЭ/ПЭК/[Cu(L-Phe)(Gly)] контролируется диффузией электроактивного вещества к поверхности электрода.

На рис. 4 представлены линейные вольтамперограммы окисления последовательно разбавленных растворов L- и D-Тир и соответствующие калибровочные графики на СУЭ/ПЭК/[Cu(L-Phe)(Gly)]. Линейный характер зависимости тока пика окисления Тир от его содержания в растворе сохраняется в концентрационном диапазоне от $2 \cdot 10^{-5}$ до $5 \cdot 10^{-4} \text{ М}$, с пределами обнаружения $1.80 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ и $1.67 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ для D-Тир и для L-Тир соответственно. Наибольшую чувствительность (15.11 мкА/мМ) сенсор проявляет к D-Тир.

Рис. 2. Линейные вольтамперограммы 0.5 мМ растворов энантимеров Тир на СУЭ (а), СУЭ/ПЭК (б), СУЭ/ПЭК/[Cu(L-Phe)(Gly)] (в) на фоне фосфатного буферного раствора с рН 6.86 при скорости сканирования потенциала 100 мВ/с.

Рис. 3. Линейные вольтамперограммы 0.5 мМ растворов D-Тир (а) и L-Тир (б) при скоростях сканирования потенциала: 10 (1), 30 (2), 70 (3), 150 (4), 250 (5), 500 (6), 750 (7) мВ/с на фоне фосфатного буферного раствора с рН 6.86. Вставки: зависимость тока пиков от квадратного корня скорости сканирования потенциала.

Для оценки правильности определения энантимеров Тир предложенным сенсором использовали метод «введено-найдено» (табл. 2). Сенсор с высокой точностью определил концентрации модельных растворов во всем линейном диапазоне, относительное стандартное отклонение во всех случаях не превышает 3.99%, что говорит о хорошей воспроизводимости, а значения относительной погрешности измерений, не превышающие 2.53%, свидетельствуют о высокой правильности измерений.

Для оценки аналитических возможностей предложенный сенсор был апробирован для опре-

деления энантимеров Тир в моче и плазме крови человека. На рис. 5 представлены линейные вольтамперограммы энантимеров Тир в биологических жидкостях. Правильность определения L- и D-Тир была оценена методом «введено-найдено» (табл. 3). Относительное стандартное отклонение при определении энантимеров Тир не превышает 5.16%, а относительная погрешность измерений – 3.93%. Статистическая оценка результатов методом «введено-найдено» свидетельствует об отсутствии значимой систематической погрешности.

Рис. 4. Линейные вольтамперограммы растворов D-Тир(а) и L-Тир(б) концентраций: 0.02 (1), 0.06 (2), 0.1 (3), 0.2 (4), 0.4 (5), 0.5 (6) mM на фоне фосфатного буферного раствора pH 6.86 при скорости сканирования потенциалов 100 мВ/с.
Вставки: соответствующие калибровочные графики.

Таблица 2

Определение энантимеров тирозина на СУЭ/ПЭК/[Cu(L-Phe)(Gly)] на фоне фосфатного буферного раствора с pH 6.86 при скорости сканирования потенциала 100 мВ/с (n = 5; P = 0.95)

Введено, мкМ		Найдено, мкМ		Относительная ошибка, %		S _n , %	
D-Тир	L-Тир	D-Тир	L-Тир	D-Тир	L-Тир	D-Тир	L-Тир
40	40	40.3±1.8	41.01±2.0	0.7	2.5	3.6	4.0
80	80	80.0±1.3	79.60±1.6	0.1	0.5	1.3	1.6
300	300	298.5±3.5	297.83±2.8	0.1	0.7	1.0	0.8

Рис. 5. Линейные вольтамперограммы D-Тир и L-Тир в растворах мочи (а) и плазмы крови (б) с содержанием энантимеров: 0.04 (1), 0.08 (2), 0.3 (3) mM на фоне фосфатного буферного раствора с pH 6.86, при скорости сканирования потенциала 100 мВ/с.

Таблица 3

Определение энантимеров тирозина в моче и плазме крови на СУЭ/ПЭК/[Cu(L-Phe)(Gly)] на фоне фосфатного буферного раствора с pH 6.86 при скорости сканирования потенциала 100 мВ/с (n = 5; P = 0.95)

Образец	Введено, мкМ		Найдено, мкМ		Относит. ошибка, %		S _n , %	
	D-Тир	L-Тир	D-Тир	L-Тир	D-Тир	L-Тир	D-Тир	L-Тир
Моча	40	40	38.8±1.8	39.8±2.2	3.0	0.6	3.8	4.4
	80	80	78.7±1.5	78.3±1.9	1.6	2.2	1.6	1.9
	300	300	295.8±5.2	295.4±4.6	1.4	1.5	1.4	1.3
Плазма	40	40	38.4±1.8	38.6±2.5	1.4	3.5	3.8	5.2
	80	80	78.5±1.5	78.3±1.9	1.9	2.2	1.5	2.0
	300	300	295.7±4.6	295.8±5.1	3.9	1.4	1.3	1.4

Рис. 6. Линейные вольтамперограммы смеси энантимеров тирозина в зависимости от содержания L-Тир в 0.4 мМ растворе (0, 20, 40, 60, 80, 100%) на СУЭ/ПЭК/[Cu(L-Phe)(Gly)] на фоне фосфатного буферного раствора с рН 6.86 при скорости сканирования потенциала 100 мВ/с (а). Зависимость потенциала (сплошная линия) и тока пика (пунктирная линия) в растворе смеси энантимеров тирозина от процентного содержания L-Тир (б).

Предложенный сенсор был применен для определения содержания энантимеров Тир в смеси. На рис. 6а приведены линейные вольтамперограммы при различном содержании L-Тир (0, 20, 40, 60, 80, 100%) в 0.4 мМ растворах смеси энантимеров Тир. Видно, что потенциалы пиков смещаются в катодную область, в то время как токи пиков увеличиваются с увеличением содержания L-Тир.

Из рис. 6б видно, что потенциалы и токи пиков линейно зависят от соотношения D- и L-Тир в смеси. Полученные результаты свидетельствуют, что сенсор СУЭ/ПЭК/[Cu(L-Phe)(Gly)] с хорошими аналитическими характеристиками позволяет определять энантимеры Тир в их смеси.

Таким образом, разработанный вольтамперометрический композитный сенсор СУЭ/ ПЭК/ [Cu(L-Phe)(Gly)] для селективного распознавания и определения энантимеров Тир, характеризуется высокой чувствительностью и точностью результатов измерений. Полученные данные свидетельствуют о том, что данный сенсор может быть применен для анализа смеси энантимеров и является эффективной хиральной платформой для распознавания и определения энантимеров Тир в образцах плазмы крови и мочи человека.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Василенко И. А., Лебедева М. В., Листров В. А. Оптические изомеры в фармацевтике//Разработка и регистрация лекарственных средств. 2015. №1. С. 92–104.
2. Sa M., Ying L., Guo T. A., Dong X. L., Ping R. Y. Simultaneous determination of Tyrosine, tryptophan and 5-hydroxytryptamine in serum of MDD patients by high performance liquid chromatography with fluorescence detection//Clin. Chim. Acta. 2012. Vol. 413. No. 11–12. P. 973–977.
3. Koga R., Miyoshi Y., Sato Y., Mita M., Konno R., Lindner W., Hamase K. Enantioselective determination of phenylalanine, Tyrosine and 3,4-dihydroxyphenylalanine in the urine of D-amino acid oxidase deficient mice using two-dimensional

- high-performance liquid chromatography//Chromatography. 2016. Vol. 37. No. 1. P. 15–22.
4. Kim J., Tran T. T. H., Hong S. P., Jeong J. S. A reference measurement procedure for amino acids in blood using isotope dilution ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry//J. Chromatogr. 2017. Vol. 1055. P. 72–80.
5. Chin J. R. L. Determination of the catecholamines and serotonin, their precursors Tyrosine and tryptophan, and their main metabolites in rat-brain using reversedphase high-performance liquid-chromatography with fluorometric and oxidative amperometric detection in series//J. Chromatogr. Biomed. Appl. 1992. Vol. 578. No. 1. P. 17–30.
6. Sanchez-Machado D. I., Chavira-Willys B., Lopez-Cervantes J. High-performance liquid chromatography with fluorescence detection for quantitation of tryptophan and Tyrosine in a shrimp waste protein concentrate//J. Chromatogr. 2008. Vol. 863. No. 1. P. 88–93.
7. Scriba G. K. E. Chiral recognition mechanisms in analytical separation sciences//Chromatographia. 2012. Vol. 75. P. 815–838.
8. Elbashir A. A., Aboul-Enein H. Y. Multidimensional gas chromatography for chiral analysis//Crit. Rev. Anal. Chem. 2018. Vol. 48. P. 416–427.
9. Wang F., Wu Y. Z., Qing Y., Ci Y. X. Spectrofluorometric determination of the substrates based on the fluorescence formation with the peroxidase-like conjugates of hemin with proteins//Anal. Lett. 1992. Vol. 25. No. 8. P. 1469.
10. Sastry C. S. P., Satyanarayana P., Tummuru M. K. Spectrophotometric determination of Tyrosine in proteins//Food Chem. 1985. Vol. 17. No. 3. P. 227–230.
11. Azuma Y., Maekawa M., Kuwabara Y., Nakajima T., Taniguchi K., Kanno T. Determination of branched-chain amino-acids and Tyrosine in serum of patients with various hepatic diseases and its clinical usefulness//Clin. Chem. 1989. Vol. 35. No. 7. P. 1399–1403.
12. Solhjoo A., Khajehsharif H. Multivariate calibration applied to the simultaneous spectrophotometric determination of ascorbic acid, Tyrosine and epinephrine in pharmaceutical formulation and biological fluids//Curr. Anal. Chem. 2016. Vol. 12. No. 6. P. 580–593.
13. Колобова Е. А., Карцова Л. А., Бессонова Е. А. Применение ионных жидкостей на основе имидазола при электрофоретическом определении аминокислот в моче//Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70. №11. С. 1179–1185.
14. Forteschi M., Sotgia S., Assaretti S., Arru D., Cambedda D., Sotgiu E., Zinellu A., Carru C. Simultaneous determination of aromatic amino acids in human blood plasma by capillary electrophoresis with UV-absorption detection//J. Sep. Sci. 2015. Vol. 38. No. 10. P. 1794–1799.

15. Voeten R. L. C., Ventouri I. K., Haselberg R., Somsen G. W. Capillary electrophoresis: Trends and recent advances//*Anal. Chem.* 2018. Vol. 90. P. 1464–1481.
16. Pan C. J., Wang W. F., Chen X. G. Recent developments of chiral separation by capillary electrophoresis//*Chin. J. Chromatogr.* 2016. Vol. 34. P. 16–20.
17. Zhang C. H., Woolfork A. G., Suh K., Ovbude S., Bi C., Elzoeiry M., Hage D. S. Clinical and pharmaceutical applications of affinity ligands in capillary electrophoresis: A review//*J. Pharm. Biomed. Anal.* 2020. Vol. 177. Article 112882.
18. Upadhyay S. S., Kalambe P. K., Srivastava A. K. Enantioselective analysis of Moxifloxacin hydrochloride enantiomers with graphene- β -cyclodextrin-nanocomposite modified carbon paste electrode using adsorptive stripping differential pulse voltammetry//*Electrochim. Acta.* 2017. Vol. 248. P. 258–269.
19. Luo H., Chen L. X., Ge Q. M., Liu M., Tao Z., Zhou Y. H., Cong H. Applications of macrocyclic compounds for electrochemical sensors to improve selectivity and sensitivity//*J. Incl. Phen. Macro.* 2019. Vol. 95. P. 171–198.
20. Luo H., Zhao Y. Y., Jin X. Y., Yang J. M., Cong H., Ge Q. M., Sun L., Liu M., Tao Z. Voltammetric detection of catechol and dopamine based on a supramolecular composite prepared from multifarene[3,3] and reduced graphene oxide//*Electroanalysis.* 2020. Vol. 32. P. 1449–1458.
21. Zhao Y., Yang J. M., Jin X. Y., Cong H., Ge Q. M., Liu M., Tao Z. Recent development of supramolecular sensors constructed by hybridization of organic macrocycles with nanomaterials//*Curr. Org. Chem.* 2020. Vol. 24. No. 3. P. 265–290.
22. Rahman M. M., Lopa N. S., Kim K., Lee J.-J. Selective detection of L-Tyrosine in the presence of ascorbic acid, dopamine, and uric acid at poly(thionine)-modified glassy carbon electrode//*J. Electroanal. Chem.* 2015. Vol. 754. P. 87–93.
23. Gu W., Wang M., Mao X., Wang Y., Li L., Xia W. A facile sensitive L-Tyrosine electrochemical sensor based on a coupled CuO/Cu₂O nanoparticles and multi-walled carbon nanotubes nanocomposite film//*Anal. Methods.* 2015. Vol. 7. P. 1313–1320.
24. Garcia-Carmona L., Moreno-Guzman M., Sierra T., Gonzalez M. C., Escarpa A. Filtered carbon nanotubes based electrodes for rapid sensing and monitoring of L-Tyrosine in plasma and whole blood samples//*Sens. Actuators B.* 2018. Vol. 259. P. 762–767.
25. Dong S. Q., Bi Q., Qiao C. D., Sun Y. M., Zhang X., Lu X. Q., Zhao L. Electrochemical sensor for discrimination Tyrosine enantiomers using graphene quantum dots and beta-cyclodextrins composites//*Talanta.* 2017. Vol. 173. P. 94–100.
26. Zhao J., Cong L., Ding Z., Zhu X., Zhang Y., Li S., Liu J., Chen X., Hou H., Fan Z., Guo M. Enantioselective electrochemical sensor of Tyrosine isomers based on macroporous carbon embedded with sulfato-beta-Cyclodextrin//*Microchemical Journal.* 2020. Vol. 159. P. 105469.
27. Atta N. F., Galal A., Ahmed Y. M. Highly conductive crown ether/ionic liquid crystal-carbon nanotubes composite based electrochemical sensor for chiral recognition of Tyrosine enantiomers//*J. Electrochem. Soc.* 2019. Vol. 166. P. B623–B630.
28. Майстренко В. Н., Зильберг Р. А. Энантиоселективные вольтамперометрические сенсоры на основе хиральных материалов//*Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. №12. С. 1080–1096.
29. Майстренко В. Н., Сидельников А. В., Зильберг Р. А. Энантиоселективные вольтамперометрические сенсоры: новые решения//*Журн. аналит. химии.* 2018. Т. 73. №1. С. 3–13.
30. Кабирова Л. Р., Дубровский Д. И., Никонова Н. А., Зильберг Р. А., Майстренко В. Н. Хемометрические подходы при обработке вольтамперограмм энантиомеров тирозина//*Доклады Башкирского университета.* 2019. Т. 4. №4. С. 369–372.
31. Зильберг Р. А., Майстренко В. Н., Кабирова Л. Р., Гуськов В. Ю., Хамитов Э. М., Дубровский Д. И. Хиральный вольтамперометрический сенсор на основе модифицированного циануровой кислотой пастового электрода для распознавания и определения энантиомеров тирозина//*Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. №1. С. 80–91.
32. Яржаева Ю. А., Дубровский Д. И., Зильберг Р. А., Майстренко В. Н., Корнилов В. М. Вольтамперометрический сенсор на основе композита 3,4,9,10-перилентетракарбоновой кислоты для распознавания и определения энантиомеров тирозина//*Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. №12. С. 1108–1118.
33. Зильберг Р. А., Каримова Г. Р., Терентьева А. С., Терес Ю. Б., Яржаева Ю. А., Майстренко В. Н. Вольтамперометрическое определение энантиомеров тирозина в фармацевтических и биологических образцах//*Вестник Башкирского университета.* 2021. Т. 26. №1. С. 84–92.
34. Fang B., Liu H., Wang G., Zhou Y., Li M., Yu Y., Zhang W. The electrochemical behavior and direct determination of Tyrosine at a glassy carbon electrode modified with poly (9-aminoacridine)//*Annali Di Chimica.* 2007. Vol. 97. P. 1005–1013.
35. Cheng H., Chen C., Zhang S. Electrochemical behavior and sensitive determination of L-Tyrosine with a gold nanoparticles modified glassy carbon electrode//*Analytical sciences.* 2009. Vol. 25. P. 1221–1225.
36. Кабирова Л. Р., Дубровский Д. И., Хаблетдинова А. И., Зильберг Р. А., Майстренко В. Н. Оптимизация условий регистрации вольтамперограмм окисления атолола на электродах, модифицированных композитами полиэлектролитных комплексов хитозана с производными циклодекстринов//*Доклады Башкирского университета.* 2018. Т. 3. №3. С. 269–274.
37. Дубровский Д. И., Кабирова Л. Р., Хаблетдинова А. И., Зильберг Р. А., Майстренко В. Н. Вольтамперометрические сенсоры на основе композитов полиэлектролитного комплекса хитозана и α -, β -, γ -циклодекстринов для определения и распознавания энантиомеров метионина//*Вестник Башкирского университета.* 2018. Т. 23. №3. С. 721–727.
38. 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. P. 1886–1894.
39. Hareesha N.; Manjunatha J. G.; Raril C.; Tigari G. Sensitive and Selective Electrochemical Resolution of Tyrosine with Ascorbic Acid through the Development of Electropolymerized Alizarin Sodium Sulfonate Modified Carbon Nanotube Paste Electrodes//*Chemistryselect.* 2020. Vol. 4. P. 4559–4567.
40. Carlsson A., Lindqvist M. Dependence of 5-HT and catecholamine synthesis on concentrations of precursor amino-acids in rat brain//*Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 1978. Vol. 303. P. 157–164.
41. Currie P. J., Chang N., Luo S., Anderson G. H. Microdialysis as a tool to measure dietary and regional effects on the complete profile of extracellular amino acids in the hypothalamus of rats//*Life Sci.* 1995. Vol. 57. P. 1911–1923.
42. Fernstrom J. D., Fernstrom. Tyrosine, phenylalanine, and catecholamine synthesis and function in the brain//*J. Nutr.* 2007. Vol. 137. №6. P. 1539S–1547S.
43. Morrow G., Tanguay R. M. Biochemical and Clinical Aspects of Hereditary Tyrosinemia Type 1//*Adv. Exp. Med. Biol.* 2017. Vol. 959. P. 9–21.
44. Вольнец Г. В., Никитин А. В., Скворцова Т. А. Наследственная тирозинемия 1-го типа у детей//*Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2019. Т. 64. №5. С. 69–83.
45. Revin S. B., John S. A. Electrochemical marker form etastaticmalignant melanoma based on the determination of l-dopa/lTyrosine ratio//*Sens. Actuators B.* 2013. Vol. 188. P. 1026–1032.
46. Зильберг Р. А., Загитова Л. Р., Вакулин И. В., Яржаева Ю. А., Терес Ю. Б., Берестова Т. В. Энантиоселективные вольтамперометрические сенсоры на основе аминокислотных комплексов Cu(II), Co(III), Zn(II)//*Журн. аналит. химии.* 2021. Т. 76. №12 (в печати).

Поступила в редакцию 29.10.2021 г.

DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2021.4.4

**VOLTAMMETRIC SENSOR BASED ON POLYELECTROLYTE COMPLEX
AND AMINO ACID COMPLEX OF COPPER(II) FOR RECOGNITION AND
DETERMINATION OF TYROSINE ENANTIOMERS**

© R. A. Zilberg*, Yu. B. Teres, L. R. Zagitova,
A. A. Zhigalova, A. A. Ibragimova

*Bashkir State University
32 Zaki Validi Street, 450076 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.*

Phone: +7 (347) 229 97 12.

**Email: zilbergra@yandex.ru*

A voltammetric sensor based on a glass-carbon electrode modified by a composite of a polyelectrolyte complex of chitosan and succinyl chitosan with an amino acid complex of copper(II) [Cu(L-Phe)(Gly)] was developed for the recognition and determination of tyrosine enantiomers. According to cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy, the effective surface area of the proposed composite sensor ($A = 5.75 \pm 0.13 \text{ mm}^2$) and electron transfer resistance values ($R_{et} = 429.55 \pm 4.02 \text{ Ohm}$) were calculated. The electrochemical and analytical characteristics of the developed sensor were studied when registering linear voltammograms of tyrosine enantiomers. The detection limit calculated by the 3s criterion for the D-enantiomer is $1.80 \cdot 10^{-5} \text{ M}$; for the L-enantiomer, the limit is $1.67 \cdot 10^{-5} \text{ M}$. The proposed sensor shows the greatest sensitivity to the D-enantiomer. The developed sensor was tested for the determination of L- and D-Tyr in model solutions of pure enantiomers in biological fluids. The relative standard deviation in the determination of Tyr enantiomers in all the cases did not exceed 5.16%, and the relative measurement error was 3.93%. Statistical evaluation of the results by the “added-found” method indicated the absence of a significant systematic error. The linear dependence of the potentials and currents of the oxidation peaks on the ratio of D- and L-Tyr in the mixture makes it possible to determine the enantiomers of Tyr in the mixture with good analytical characteristics. The data obtained indicate that this sensor can be successfully used for the analysis of a mixture of enantiomers and is an effective chiral platform for the recognition and determination of Tyr enantiomers in human plasma and urine samples.

Keywords: voltammetry, modified electrodes, enantiomers, amino acid complex of copper(II), tyrosine, polyelectrolyte complex of chitosan and succinyl chitosan, biological fluids, mixture of enantiomers.

Published in Russian. Do not hesitate to contact us at bulletin_bsu@mail.ru if you need translation of the article.

REFERENCES

1. Vasilenko I. A., Lebedeva M. V., Listrov V. A. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*. 2015. No. 1. Pp. 92–104.
2. Sa M., Ying L., Guo T. A., Dong X. L., Ping R. Y. *Clin. Chim. Acta*. 2012. Vol. 413. No. 11–12. Pp. 973–977.
3. Koga R., Miyoshi Y., Sato Y., Mita M., Konno R., Lindner W., Hamase K. *Chromatography*. 2016. Vol. 37. No. 1. Pp. 15–22.
4. Kim J., Tran T. T. H., Hong S. P., Jeong J. S. *J. Chromatogr.* 2017. Vol. 1055. Pp. 72–80.
5. Chin J. R. L. *J. Chromatogr. Biomed. Appl.* 1992. Vol. 578. No. 1. Pp. 17–30.
6. Sanchez-Machado D. *J. Chromatogr.* 2008. Vol. 863. No. 1. Pp. 88–93.
7. Scriba G. K. E. *Chromatographia*. 2012. Vol. 75. Pp. 815–838.
8. Elbashir A. A., Aboul-Enein H. Y. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2018. Vol. 48. Pp. 416–427.
9. Wang F., Wu Y. Z., Qing Y., Ci Y. X. *Anal. Lett.* 1992. Vol. 25. No. 8. Pp. 1469.
10. Sastry C. S. P., Satyanarayana P., Tummuru M. K. *Food Chem.* 1985. Vol. 17. No. 3. Pp. 227–230.
11. Azuma Y., Maekawa M., Kuwabara Y., Nakajima T., Taniguchi K., Kanno T. *Clin. Chem.* 1989. Vol. 35. No. 7. Pp. 1399–1403.
12. Solhjoo A., Khajehsharifi H. *Curr. Anal. Chem.* 2016. Vol. 12. No. 6. Pp. 580–593.
13. Kolobova E. A., Kartsova L. A., Bessonova E. A. *Zhurn. analit. khimii*. 2015. Vol. 70. No. 11. Pp. 1179–1185.
14. Forteschi M., Sotgia S., Assaretti S., Arru D., Cambedda D., Sotgiu E., Zinellu A., Carru C. *J. Sep. Sci.* 2015. Vol. 38. No. 10. Pp. 1794–1799.
15. Voeten R. L. C., Ventouri I. K., Haselberg R., Somsen G. W. *Anal. Chem.* 2018. Vol. 90. Pp. 1464–1481.
16. Pan C. J., Wang W. F., Chen X. G. *Chin. J. Chromatogr.* 2016. Vol. 34. Pp. 16–20.

17. Zhang C. H., Woolfork A. G., Suh K., Ovbude S., Bi C., Elzoeiry M., Hage D. S. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2020. Vol. 177. Article 112882.
18. Upadhyay S. S., Kalambate P. K., Srivastava A. K. *Electrochim. Acta.* 2017. Vol. 248. Pp. 258–269.
19. Luo H., Chen L. X., Ge Q. M., Liu M., Tao Z., Zhou Y. H., Cong H. J. *Incl. Phen. Macro.* 2019. Vol. 95. Pp. 171–198.
20. Luo H., Zhao Y. Y., Jin X. Y., Yang J. M., Cong H., Ge Q. M., Sun L., Liu M., Tao Z. *Electroanalysis.* 2020. Vol. 32. Pp. 1449–1458.
21. Zhao Y., Yang J. M., Jin X. Y., Cong H., Ge Q. M., Liu M., Tao Z. *Curr. Org. Chem.* 2020. Vol. 24. No. 3. Pp. 265–290.
22. Rahman M. M., Lopa N. S., Kim K., Lee J.-J. *Electroanal. Chem.* 2015. Vol. 754. Pp. 87–93.
23. Gu W., Wang M., Mao X., Wang Y., Li L., Xia W. *Anal. Methods.* 2015. Vol. 7. Pp. 1313–1320.
24. Garcia-Carmona L., Moreno-Guzman M., Sierra T., Gonzalez M. C., Escarpa A. *Sens. Actuators B.* 2018. Vol. 259. Pp. 762–767.
25. Dong S. Q., Bi Q., Qiao C. D., Sun Y. M., Zhang X., Lu X. Q., Zhao L. *Talanta.* 2017. Vol. 173. Pp. 94–100.
26. Zhao J., Cong L., Ding Z., Zhu X., Zhang Y., Li S., Liu J., Chen X., Hou H., Fan Z., Guo M. *Microchemical Journal.* 2020. Vol. 159. Pp. 105469.
27. Atta N. F., Galal A., Ahmed Y. M. *J. Electrochem. Soc.* 2019. Vol. 166. P. B623–B630.
28. Maistrenko V. N., Zil'berg R. A. *Zhurn. analit. khimii.* 2020. Vol. 75. No. 12. Pp. 1080–1096.
29. Maistrenko V. N., Sidel'nikov A. V., Zil'berg R. A. *Zhurn. analit. khimii.* 2018. Vol. 73. No. 1. Pp. 3–13.
30. Kabirova L. R., Dubrovskii D. I., Nikonova N. A., Zil'berg R. A., Maistrenko V. N. *Doklady Bashkirskogo universiteta.* 2019. Vol. 4. No. 4. Pp. 369–372.
31. Zil'berg R. A., Maistrenko V. N., Kabirova L. R., Gus'kov V. Yu., Khamitov E. M., Dubrovskii D. I. *Zhurn. analit. khimii.* 2020. Vol. 75. No. 1. Pp. 80–91.
32. Yarkaeva Yu. A., Dubrovskii D. I., Zil'berg R. A., Maistrenko V. N., Kornilov V. M. *Zhurn. analit. khimii.* 2020. Vol. 75. No. 12. Pp. 1108–1118.
33. Zil'berg R. A., Karimova G. R., Terent'eva A. S., Teres Yu. B., Yarkaeva Yu. A., Maistrenko V. N. *Vestnik Bashkirskogo universiteta.* 2021. Vol. 26. No. 1. Pp. 84–92.
34. Fang B., Liu H., Wang G., Zhou Y., Li M., Yu Y., Zhang W. *Annali Di Chimica.* 2007. Vol. 97. Pp. 1005–1013.
35. Cheng H., Chen C., Zhang S. *Analytical sciences.* 2009. Vol. 25. Pp. 1221–1225.
36. Kabirova L. R., Dubrovskii D. I., Khabletdinova A. I., Zil'berg R. A., Maistrenko V. N. *Doklady Bashkirskogo universiteta.* 2018. Vol. 3. No. 3. Pp. 269–274.
37. Dubrovskii D. I., Kabirova L. R., Khabletdinova A. I., Zil'berg R. A., Maistrenko V. N. *Vestnik Bashkirskogo universiteta.* 2018. Vol. 23. No. 3. Pp. 721–727.
38. Zil'berg R. A., Maistrenko V. N., Kabirova L. R., Dubrovskii D. I. *Anal. Methods.* 2018. Vol. 10. No. 16. Pp. 1886–1894.
39. Hareesha N., Manjunatha J. G., Raril C., Tigari G. *Chemistryselect.* 2020. Vol. 4. Pp. 4559–4567.
40. Carlsson A., Lindqvist M. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 1978. Vol. 303. Pp. 157–164.
41. Currie P. J., Chang N., Luo S., Anderson G. H. *Life Sci.* 1995. Vol. 57. Pp. 1911–1923.
42. Fernstrom J. D., Fernstrom. Tyrosine, phenylalanine, and catecholamine synthesis and function in the brain//*J. Nutr.* 2007. Vol. 137. No. 6. Pp. 1539S–1547S.
43. Morrow G., Tanguay R. M. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017. Vol. 959. Pp. 9–21.
44. Volynets G. V., Nikitin A. V., Skvortsova T. A. *Rossiiskii vestnik perinatologii i pediatrii.* 2019. Vol. 64. No. 5. Pp. 69–83.
45. Revin S. B., John S. A. *Sens. Actuators B.* 2013. Vol. 188. Pp. 1026–1032.
46. Zil'berg R. A., Zagitova L. R., Vakulin I. V., Yarkaeva Yu. A., Teres Yu. B., Berestova T. V. *Zhurn. analit. khimii.* 2021. Vol. 76. No. 12 (v pechati).

Received 29.10.2021.