

Рекомендована д.х.н., професором В.В.Болотовим

УДК 615.074:543.426:546.65

## ЗАСТОСУВАННЯ СЕНСИБІЛІЗОВАНОЇ ЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ ТЕРБІЮ (III) ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ГІДРОХЛОРИДУ ДІЕТИЛАМІНОЕТИЛАМІДУ 1-ПРОПІЛ-2-ОКСО-4-ГРОКСИХІНОЛІН-3-КАРБОНОВОЇ КИСЛОТИ ГІДРАТУ

А.В.Єгорова, І.В.Українець, П.О.Безуглий,  
В.П.Антонович, О.І.Теслюк, С.В.Бельтюкова

Фізико-хімічний інститут ім.О.В.Богатського НАН України  
Національний фармацевтичний університет

**Вивчена сенсibilізована люмінесценція тербію (III) у комплексі з гідрохлоридом діетиламіноетиламіду 1-пропіл-2-оксо-4-гіроксихінолін-3-карбонОВОЇ кислоти гідратом (хіноксикаїном). Показано, що інтенсивність люмінесценції Tb (III) підвищується на кілька порядків, що є наслідком внутрішньомолекулярного переносу енергії збудження від ліганду до іона лантаніду. Вивчені люмінесцентні властивості комплексу в розчині і розроблена високочутлива люмінесцентна методика визначення хіноксикаїну у плазмі крові з межею визначення 1 мкг/мл.**

Зумовлений 4-f переходами, які відповідають за вузькосмугові спектри люмінесценції у видимій області спектра, метод сенсibilізованої люмінесценції лантанідів широко застосовується для визначення ряду лікарських засобів: фторхінолонів [7, 9, 14], антибіотиків [10, 13], протизапальних, антисептичних, гормональних препаратів [3-5, 8, 12], діуретиків [1, 6], катехоламінів [2, 15] та інших як у дозованих формах, так і їх слідових кількостей у різноманітних біологічних рідинах. Знайшов застосування цей метод також і у клінічному моніторингу та при вивченні фармакокінетики нових препаратів.

Нещодавно для впровадження в медичну практику був запропонований новий місцевий анестетик — гідрохлорид діетиламіноетиламіду 1-пропіл-2-оксо-4-гіроксихінолін-3-карбонОВОЇ кислоти гідрат (хіноксикаїн) [11]. Методи високочутливого визначення цієї сполуки, придатні для хіміко-клінічного аналізу, у літературі не описані. Разом з тим особливості її хімічної будови (гідроксильні, карбонільні, амідні групи) дозволяють сподіватися на успішне застосування методик, основаних на утворенні комплексів.

Виходячи з цього, метою даної роботи є встановлення оптимальних умов утворення люміне-

сцентних комплексів хіноксикаїну з лантанідами та розробка методики кількісного визначення даного препарату у біологічній рідині (плазмі крові).

### Матеріали та методи

У роботі використовували стандартні розчини ( $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л, 1 мг/мл) хлоридів тербію, диспрозію, європію та самарію, які готували з відповідних оксидів високої чистоти. Стандартні розчини хіноксикаїну ( $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л, 1 мг/мл) готували розчиненням точної наважки препарату у дистильованій воді. Значення рН розчинів встановлювали за допомогою ацетатно-аміачних буферів та вимірювали на рН-метрі ОР-211/1 (Radelkis). У роботі використовували також водні розчини поверхнево-активних речовин (ПАР) та етанольний розчин триоктилфосфіноксиду ( $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л). Люмінесценцію збуджували випромінюванням ртутно-кварцевої лампи СВД-120А з світлофільтром УФС-2, спектри реєстрували в області 400-640 нм за допомогою спектрографа ІСП-51 з фотоелектричною приставкою ФЕП-1. Спектри поглинання реєстрували на спектрофотометрі Lambda-9 (Perkin Elmer), використовуючи 10 мм кварцеві кювети. Триpletні рівні ліганду вимірювали при 77 К.

### Результати та їх обговорення

Знайдено, що вивчаєми́й препарат утворює комплексні сполуки з іонами лантанідів (Ln): Tb<sup>3+</sup>, Dy<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup>, Sm<sup>3+</sup>, у яких відбувається сенсibilізація люмінесценції останніх за рахунок внутрішньомолекулярного переносу енергії збудження від молекули ліганду до іона Ln<sup>3+</sup>. Завдяки цьому інтенсивність люмінесценції лантанідів підвищується на кілька порядків.

Згідно з існуючими уявленнями сенсibilізація люмінесценції іона лантаніду відбувається в тому випадку, коли енергія триpletного стану молекули ліганду дорівнює або більше енергії резонансного рівня іона лантаніду. Триpletний рівень ліганду, розрахований із спектрів фосфоресценції при 77 К, становить  $22100 \text{ см}^{-1}$ , що значно перевищує

Таблиця 1

Параметри спектрів люмінесценції лантанідів (Tb, Dy, Eu, Sm) у комплексах з хіноксикаїном

Іон лантаніду	Переходи	$\lambda$ , нм	$E_t$ , $\text{см}^{-1}$	Відносна $I_{\text{люм}}$ , % $C_{\text{Ln}}=1 \cdot 10^{-6}$ моль/л (смуги ЗЧП)
Tb	$^5D_4 \rightarrow ^7F_6$ (ЗЧП)	490	20500	100,00
	$^5D_4 \rightarrow ^7F_5$	545		
	$^5D_4 \rightarrow ^7F_4$	590		
Dy	$^4F_9/2 \rightarrow ^6H_{13/2}$ (ЗЧП)	480	21000	4,60
	$^4F_9/2 \rightarrow ^6H_{11/2}$	570		
Eu	$^5D_0 \rightarrow ^7F_0$	580	17300	4,10
	$^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ (ЗЧП)	590		
	$^5D_0 \rightarrow ^7F_2$	612		
Sm	(ЗЧП) $G_{5/2} \rightarrow ^6H_{5/2}$	562	17900	0,25
	$^4G_{5/2} \rightarrow ^6H_{1/2}$	595		
	$^4G_{5/2} \rightarrow ^6H_{9/2}$	640		

енергії перших збуджених рівней Tb (III), Dy (III), Eu (III), Sm (III) (табл.1). Відносна  $I_{\text{люм}}$  смуг відповідає зверхчутливим переходам (ЗЧП) для однакових концентрацій лантанідів ( $1 \cdot 10^{-6}$  моль/л).

Дослідження оптичних характеристик ліганду показало, що в ультрафіолетовій області спектра є дві смуги поглинання з максимумами при 237 нм ( $\epsilon=58400 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ) та 290 нм ( $\epsilon=19100 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ). Завдяки цьому відбувається передача енергії збудження на іони лантанідів та спостерігається їх інтенсивна люмінесценція у присутності ліганду. Встановлено, що найбільш інтенсивну люмінесценцію проявляє іон тербію (табл. 1, рис. 1), який був вибраний для аналітичних досліджень. Спектр люмінесценції тербію у комплексі з хіноксикаїном складається з трьох смуг, найбільш інтенсивною з яких є смуга з максимумом при 546 нм (перехід  $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ ). Нами були досліджені люмінесцентні властивості іона тербію у комплексі з хіноксикаїном з метою кількісного визначення самого реагенту.

Внутрішньомолекулярний перенос енергії збудження від органічної частини молекули також підтверджується гасінням власної люмінесценції реагенту ( $\lambda_{\text{ем}}=425 \text{ нм}$ ) зі збільшенням концентрації додаваного іона тербію (рис. 2).

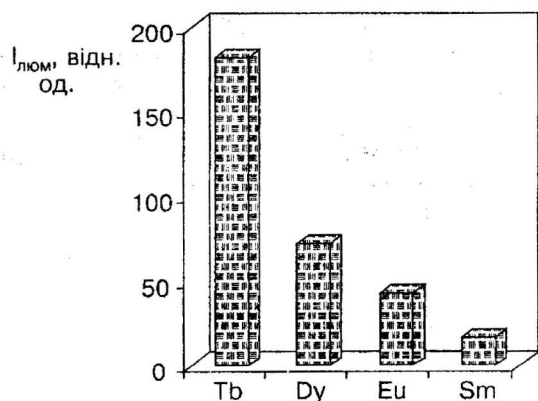


Рис. 1. Відносна інтенсивність люмінесценції лантанідів у комплексах з хіноксикаїном: Tb (III) ( $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ );  $C_{\text{Tb}}=5 \cdot 10^{-7}$  моль/л; Dy (III) ( $^4F_9/2 \rightarrow ^6H_{11/2}$ );  $C_{\text{Dy}}=1 \cdot 10^{-6}$  моль/л; Eu (III) ( $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ );  $C_{\text{Eu}}=1 \cdot 10^{-6}$  моль/л; Sm (III) ( $^4G_{5/2} \rightarrow ^6H_{5/2}$ );  $C_{\text{Sm}}=1 \cdot 10^{-5}$  моль/л.

Люмінесценція сполук тербію з хіноксикаїном спостерігається у широкому інтервалі кислотності (рН 5,5-13,0) (рис. 3) з максимумом при рН 9,0-10,5, що досягається введенням амонійно-оцтового буферного розчину (рН 10).

Вивчення залежності  $I_{\text{люм}}$  тербію у комплексі з хіноксикаїном від концентрації Tb(III) показало, що максимальне значення  $I_{\text{люм}}$  тербію спостерігається при концентрації останнього  $1 \cdot 10^{-4}$  моль/л (рис. 4).

Інтенсивність люмінесценції ( $I_{\text{люм}}$ ) іонів тербію у комплексі з хіноксикаїном залежить від кількості ліганду в розчині, що дозволяє використовувати цю властивість для визначення в ньому хіноксикаїну. Для досягнення максимальної  $I_{\text{люм}}$  необхідний 100-кратний надлишок реагента по відношенню до іона лантаніду. Методом обмеженого логарифмування в умовах як надлишку ліганду, так і надлишку тербію (III) встановлено спів-

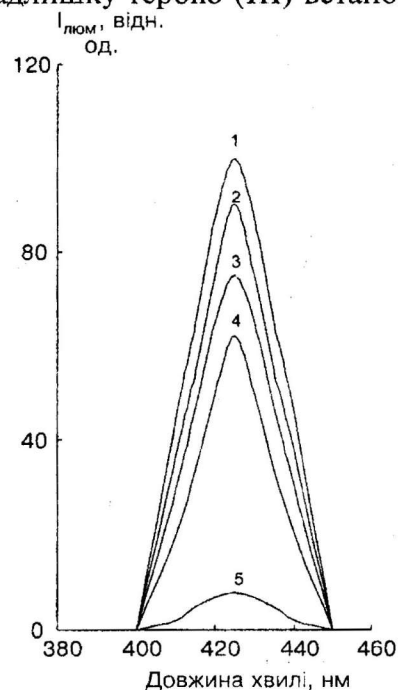


Рис. 2. Залежність власної інтенсивності люмінесценції ліганду ( $C_{\text{хіноксикаїну}}=5 \cdot 10^{-4}$  моль/л) від концентрації додаваного іона тербію: 1.  $C_{\text{Tb}}=0$  моль/л; 2.  $C_{\text{Tb}}=1 \cdot 10^{-7}$  моль/л; 3.  $C_{\text{Tb}}=1 \cdot 10^{-6}$  моль/л; 4.  $C_{\text{Tb}}=5 \cdot 10^{-6}$  моль/л; 5.  $C_{\text{Tb}}=1 \cdot 10^{-5}$  моль/л.

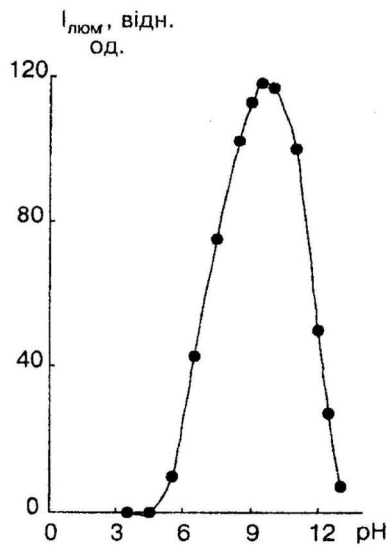


Рис. 3. Залежність інтенсивності люмінесценції Tb (III) в комплексі з хіноксикаїном від рН розчину.  $C_{Tb} = 1 \cdot 10^{-6}$  моль/л,  $C_{хіноксикаїну} = 1 \cdot 10^{-4}$  моль/л.

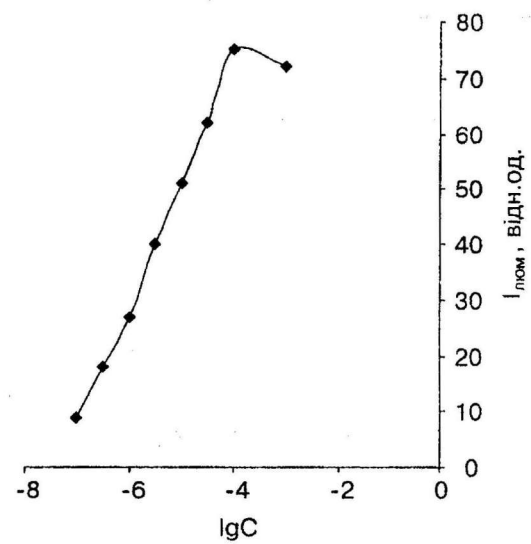


Рис. 4. Залежність  $I_{люм}$  комплексу від концентрації Tb (III) ( $C_{хіноксикаїну} = 1 \cdot 10^{-6}$  моль/л).

Таблиця 2

Результати визначення хіноксикаїну в модельних розчинах плазми крові

Введено, мкг/мл	Знайдено, мкг/мл	Sr, %
5	5,02	6,5
25	24,86	4,3
50	49,75	2,8

відношення компонентів у комплексі Tb:хіноксикаїн = 1:2.

Введення у систему органічних розчинників (етанолу, метанолу, пропанолу-2, ацетону, диметилформаміду, диметилсульфоксиду) знижує  $I_{люм}$  тербію. Найбільша  $I_{люм}$  тербію спостерігається у водному розчині комплексу.

Відомо, що інтенсивність люмінесценції лантанідів значною мірою залежить від присутності у розчині поверхнево-активних речовин (ПАР) або донорно-активних домішок, наприклад, триоктилфосфіноксиду (ТОФО). У зв'язку з цим був розглянутий вплив деяких ПАР і ТОФО на  $I_{люм}$  Tb в комплексі з хіноксикаїном. Встановлено, що присутність ПАР або ТОФО незначно гасить  $I_{люм}$  Tb або не впливає на неї в комплексі з хіноксикаїном.

При оптимальних умовах комплексоутворення  $I_{люм}$  досягає максимуму через 1-2 хв після зливання розчинів і залишається постійною протягом 1 години. Інтенсивність люмінесценції Tb (III) в комплексі з хіноксикаїном прямо пропорційна вмісту останнього в інтервалі концентрацій від 0,003 до 3 мкг/мл для розчинів без біоматриці та 2,5-250 мкг/мл у плазмі крові.

**Методика визначення гідрохлориду діетиламіноетиламиду 1-пропіл-2-оксо-4-гіроксихінолін-3-карбонової кислоти гідрату в плазмі крові.**

Методика розроблена на модельних розчинах (розчини з відомим вмістом визначаемого реаген-

ту) плазми крові. Для визначення за методом добавок у три пробірки вміщують по 0,2 мл досліджуваного розчину плазми, у дві з них додають такі кількості стандартного розчину реагенту (добавка), які підвищували б інтенсивність люмінесценції тербію у 2 і 4 рази, в усі пробірки приливають по 0,1 мл розчину хлориду тербію, додають по 1 мл амонійно-оцетового буферного розчину (рН 10) і доводять об'єм до 10 мл водою. Паралельно готують розчин холостої проби, який вміщує усі компоненти окрім хіноксикаїну. Пробі перемішують та замірюють інтенсивність люмінесценції при  $\lambda = 546$  нм.

Вміст хіноксикаїну в досліджуваній пробі визначають за методом добавок та розраховують за формулою:

$$x = \frac{c \cdot h_x}{h_{x+g} - h_x}$$

де:  $x$  — вміст хіноксикаїну у пробі, мг;  $h_x$ ,  $h_{x+g}$  — відповідно  $I_{люм}$  проби та проби з добавкою (висота піку в мм);  $c$  — вміст добавки, мг.

Межа визначення, мг, запропонованим методом складає 0,001 мкг/мл без біологічної матриці та 1 мкг/мл у плазмі крові. Метод може бути використаний для вивчення фармакокінетики цього плануемого до впровадження лікарського засобу. Точність та достовірність методу були перевірені способом "введено-знайдено" та шляхом статистичної обробки результатів визначення хіноксикаїну у модельних розчинах плазми крові (табл. 2).

#### ВИСНОВКИ

1. Показано, що хіноксикаїн утворює комплексні сполуки з іонами Tb (III), Dy (III), Eu (III), Sm (III), у яких відбувається сенсibilізація люмінесценції останніх.

2. Встановлені оптимальні умови сенсibilізованої люмінесценції Tb (III).

3. Запропонована проста, високочутлива методика визначення гідрохлориду діетиламіноетиламі-

ду 1-пропіл-2-оксо-4-гіроксихінолін-3-карбонової кислоти гідрату у плазмі крові без попереднього вилучення препарату. Метрологічні характеристики

методики свідчать про можливість її рекомендації для клінічного моніторингу цього препарату та для його визначення в дозованих лікарських формах.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Бельтюкова С.В., Егорова А.В., Теслюк О.И. // *Укр. хім. журн.* — 2000. — Т. 66, №10. — С. 115-121.
2. Бельтюкова С.В., Кравченко Т.Б., Егорова А.В., Точидловская Т.Л., // *Укр. хім. журн.* — 1988 — Т. 54, №10. — С. 1069-1072.
3. Егорова А.В., Бельтюкова С.В., Теслюк О.И. // *Фарм. журн.* — 1999. — №4. — С. 68-71.
4. Amin M., Harrington K., Wandruszka R. // *Anal. Chem.* — 1993. — Vol. 65. — P. 2346-2351.
5. Armand N., Georges J. // *Analyst.* — 1999. — Vol. 124. — P. 1075-1078.
6. Beltyukova S., Tselik E., Egorova A.V. // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* — 1998. — №18. — P. 261-266.
7. Yegorova A., Beltyukova S., Teslyuk O. // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* — 1999. — Vol. 21. — P. 585-590.
8. Yegorova A.V., Beltyukova S.V. // *J. Fluorescence.* — 1999. — Vol. 9, №3. — P. 245-249.
9. Hernandez-Arteseros J.H., Compano R., Ferrer R., Prat M.D. // *Analyst.* — 2000. — Vol. 125. — P. 1155-1158.
10. Izquierdo P., Gomez-Hens A., Perez-Bendito D. // *Anal. Lett.* — 1994. — Vol. 27, №12. — P. 2303-2316.
11. Pat. 6340692 B1 USA, МКІ<sup>7</sup> А 61 К 31/47. *Injectable anesthetic / Ukrainets I.V., Bezugly P.A. (UA).* — №09/612656; Заявл.: 07.07.2000. Опубл.: 22.01.2002.
12. Rieutord A., Prognon P., Mahuzier G. // *Analysis.* — 1996. — Vol. 24. — P. 349-360.
13. Rizk M., El-Shabrawy Y., Zakhari N.A. et al. // *Talanta.* — 1995. — Vol. 42. — P. 1849-1856.
14. Veiopoulou C.J., Ioannou P.C., Lianidou E.S. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* — 1997. — Vol. 15. — P. 1839-1844.
15. Zhu Ronhua, Kok Wim Th. // *Anal. Chem.* — 1997. — Vol. 69, №19. — P. 4010-4016.

УДК 615.074:543.426:546.65

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СЕНСИБИЛИЗИРОВАННОЙ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ТЕРБИЯ (III) ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГИДРОХЛОРИДА ДИЭТИЛАМИНОЭТИЛАМИДА 1-ПРОПИЛ-2-ОКСО-4-ГИРОКСИХИНОЛИН-3-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ ГИДРАТА

А.В.Егорова, И.В.Украинец, П.А.Безутлый, В.П.Антонович, О.И.Теслюк, С.В.Бельтюкова

Изучена сенсibilизированная люминесценция тербия (III) в комплексе с гидрохлоридом диэтиламиноэтиламида 1-пропил-2-оксо-4-гироксихінолін-3-карбонової кислоти гідратом (хиноксикаїном). Показано, что интенсивность люминесценции Tb (III) возрастает на несколько порядков, что является следствием внутримолекулярного переноса энергии возбуждения от лиганда к иону лантанида. Изучены люминесцентные свойства комплекса в растворе и разработана высокочувствительная люминесцентная методика определения хиноксикаина в плазме крови с пределом обнаружения 1 мкг/мл.

UDC 615.074:543.426:546.65

USING OF SENSIBILIZED LUMINESCENCE OF TERBIUM (III) FOR DETERMINATION OF HYDROCHLORIDE DIETHYLAMINOETHYLAMIDE 1-PROPYL-2-OXO-4-HYDROXYQUINOLINE-3-CARBOXYLIC ACID OF HYDRATE

A.V.Yegorova, I.V.Ukrainets, P.A.Bezugly, V.P.Antonovich, O.I.Teslyuk, S.V.Beltyukova

The sensibilezed luminescence of terbium (III) in the complex with hydrochloride diethylaminoethylamide 1-propyl-2-oxo-4-hydroxyquinoline-3-carboxylic acid hydrate (quinoxycaine) has been investigated. Its been shown that the luminescence intensity of Tb (III) will be increased in same orders as the result of intramolecular transfer of exiting energy from ligand to lanthanide ion. The luminescence properties of the complex have been studied in solution, and high sensitive luminescence method for the determination of quinoxycaine in plasma has been developed with the limit of detection 1 mg/ml.