

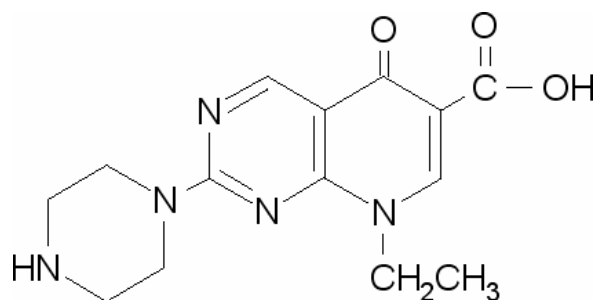
УДК 546.65; 541.49; 543.8

ТЕСТ-ВИЗНАЧЕННЯ ПІПЕМІДІЄВОЇ КИСЛОТИ В ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩАХ

© 2007 Бельтюкова С.В., Малинка О.В., Лівенцова О.О., Теслюк О.І.*

Показана можливість використання сенсibilізованої люмінесценції іонів Eu (III) у комплексі з піпемідієвою кислотою на ксерогелі для визначення останньої в живильних середовищах. Розроблено просту, високочутливу тест-методику визначення піпемідієвої кислоти.

Піпемідієва кислота (2-піперазин-5-оксо-8-етил-5,8-дигідропіrido(2,3-d) піримидин-6-карбонова кислота)



відноситься до похідних 4-хінолона, які являють собою групу нових високоефективних антибактеріальних препаратів, широко застосовуваних у сучасній медичній практиці при терапії різних захворювань.

Для визначення антибіотиків хінолонового ряду найчастіше використовують методи високо-ефективної рідинної хроматографії [1-4], газорідинної хроматографії [5], іонометрії [6]. Для кількісного визначення піпемідієвої кислоти запропоновано також спектрофлуориметричний [7], хроматографічний [8] методи. Межа виявлення кислоти складає відповідно 1 та 5 мкг/мл. Метод вольтамперометрії [9] дозволяє визначати піпемідієву кислоту в інтервалі концентрації $2,8 \cdot 10^{-7} - 1,2 \cdot 10^{-6}$ моль/л. Практично всі відомі методи мають недостатні межі визначення, або вимагають складного й дорогого апаратурного оформлення. Тому розробка експрес-визначення цього препарату для клінічних випробувань і вивчення фармакокінетики/фармакодинаміки *in vitro*, необхідні для оцінки ефективності проти патогенів і можливої появи опору, є досить актуальною.

Відомо, що сорбція різних комплексних сполук дозволяє в ряді випадків значно підвищити вибірковість, селективність, знизити межу виявлення й розробити тест-методику визначення тих або інших компонентів. У зв'язку із цим при аналізі різних об'єктів знаходять застосування сорбційно-спектроскопічні методи. Представлялося доцільним розглянути сорбцію комплексних сполук европію (III) з піпемідієвою кислотою (ПК) на ксерогелі, з'ясувати можливість розробки визначення останньої в живильних середовищах.

Апаратура і техніка експерименту. У роботі використовували розчини хлориду европію (0,01 моль/л, 1 мг/мл), які готували з оксиду европію високої чистоти. Розчини піпемідієвої кислоти (0,01 моль/л, 1 мг/мл), готували розчиненням її в етанолі. Значення рН розчинів регулювали доданням 40%-ного водного розчину уротропіну. У роботі використовували також водні розчини поверхнево-активних речовин: додецил-, тридецил-, тетрадецил- і гексадецилсульфату натрію концентрації 0,01 моль/л. Ксерогель отримували гідролізом тетраетоксисилану у водно-етанольній суміші [10], яка містить хлорид европію у кількості, відповідній вмісту 152 мг Eu(III) на 1 г сорбенту. Люмінесценцію збуджували випромінюванням ртутно-кварцової

* Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України
Одеська національна академія харчових технологій

лампи СВД-120А зі світлофільтром УФС-2. Спектри люмінесценції реєстрували за допомогою спектрометра СДЛ-1. Значення рН розчинів вимірювали рН-метром ОР-211/1 (Radelkis).

Результати і їх обговорення

Раніше нами було показано, що піпемідієва кислота утворює з іонами Eu(III) комплексну сполуку, у якій здійснюється сенсibiлізація люмінесценції останнього за рахунок внутрішньо-молекулярного переносу енергії збудження від ліганду до іону лантаніду [11]. У спектрі поглинання піпемідієвої кислоти наявні дві смуги поглинання з максимумами при 278 нм та 365 нм. Молярний коефіцієнт поглинання першої смуги складає 90000, що обумовлює можливість ефективного поглинання світлової енергії. Енергія триплетного рівня піпемідієвої кислоти складає 22350 см^{-1} , тобто можлива передача енергії збудження ліганду на енергетичний рівень 5D_2 (21500 см^{-1}) лантаніду з наступною безвипромінювальною дезактивацією до першого збудженого стану 5D_0 (17300 см^{-1}). Найбільш інтенсивною в спектрі люмінесценції комплексу європію є смуга з максимумом випромінювання при 612 нм, що відповідає переходу $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ (рис.1).

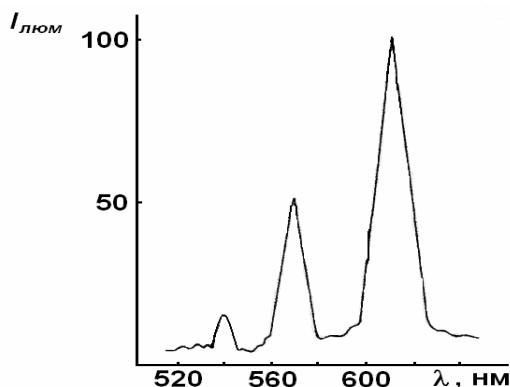


Рис. 1. Спектр люмінесценції Eu(III) в комплексі з піпемідієвою кислотою

Комплексоутворення іонів Eu(III) з піпемідієвою кислотою здійснюється в основному в нейтральних розчинах з максимумом люмінесценції при рН 7.0-7.5.

Встановлено, що люмінесцентні властивості хелату Eu(III) зберігаються й на ксерогелі. При цьому інтенсивність люмінесценції ($I_{\text{люм}}$) Eu(III) на твердій матриці зростає на порядок величини, що пов'язано зі збільшенням жорсткості комплексу, який утворюється на поверхні ксерогелю і зменшенням у зв'язку з цим безвипромінювальних втрат енергії збудження.

$I_{\text{люм}}$ сорбатів Eu(III) залежить від кількості ліганду в розчині, з якого ведеться сорбція. Як видно з рис.2а, максимальне значення $I_{\text{люм}}$ Eu(III) спостерігається при концентрації піпемідієвої кислоти в розчині 40-60 мкг/мл.

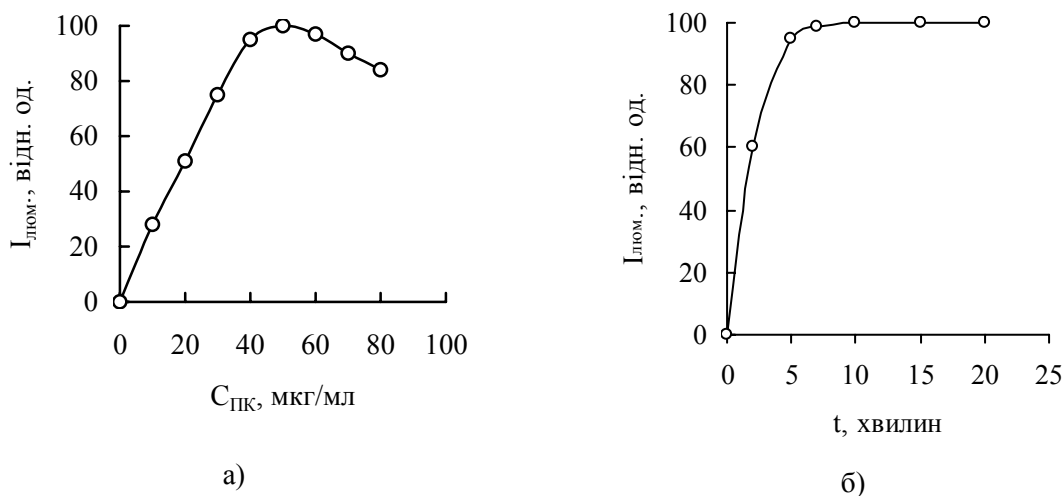
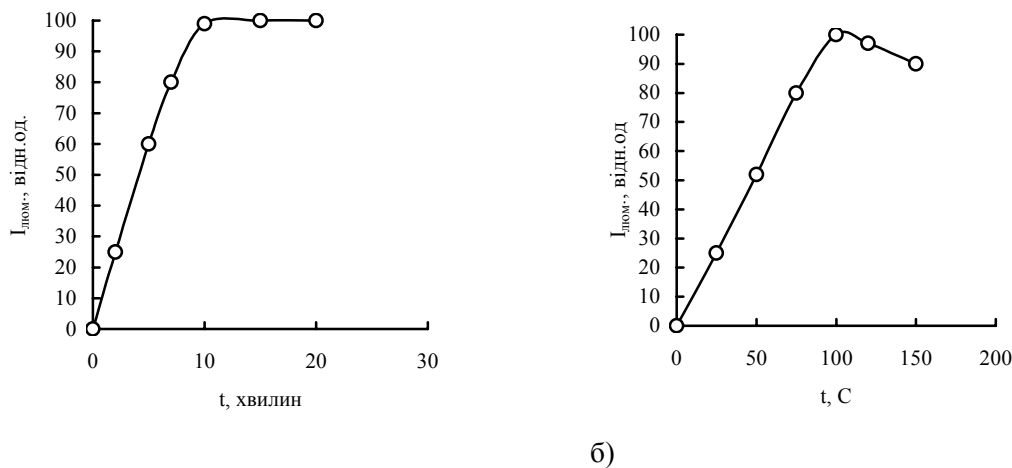


Рис. 2. Залежність $I_{\text{люм}}$ сорбату комплексу Eu(III) з піпемідієвою кислотою від кількості ліганду (а); часу сорбції ліганду (б)

Встановлено, що $I_{\text{люм}}$ сорбату залежить також від часу сорбції ліганда. Для одержання найбільшої $I_{\text{люм}}$ сорбату Eu(III) досить 5-хвилинної сорбції ліганду з розчину, що аналізується (рис.2б).

Після проведення сорбції ліганду сорбент відфільтровують, промивають дистильованою водою й висушують. На рис.3 наведена залежність $I_{\text{люм}}$ сорбатів Eu(III) з ПК від температури й часу висушування. Оптимальним є висушування сорбатів при температурі 100°C протягом 10 хв. При висушуванні ксерогеля в мікрохвильовій печі час висушування скорочується до 2-х хвилин.



а)

б)

Рис. 3. Залежність $I_{\text{люм}}$ сорбату комплексу Eu(III) з піпемідієвою кислотою від часу висушування (а) та температури висушування (б)

$I_{\text{люм}}$ сорбату залежить від кислотності розчину, з якого проводиться сорбція. Максимальна $I_{\text{люм}}$ сорбату спостерігається при проведенні сорбції з нейтрального розчину із $\text{pH} = 6.5-7.5$, що згоджується з областю знаходження в розчині форми комплексу Eu(ПК)_2 , який люмінесцює.

$I_{\text{люм}}$ сорбатів Eu(III) з ПК залежить від природи розчинника, з якого проводиться сорбція. Оптимальна $I_{\text{люм}}$ спостерігається при використанні етанолу (рис.4).

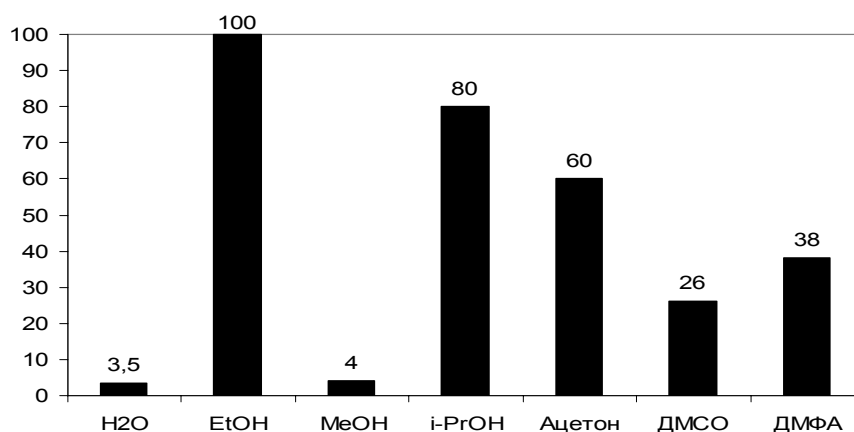


Рис. 4. Вплив природи розчинника на $I_{\text{люм}}$ сорбатів Eu(III) з піпемідієвою кислотою

Додецил-, тридецил-, тетрадецил- і гексадецилсульфат натрію викликають збільшення $I_{\text{люм}}$ Європію в комплексі в 30-50 разів. Встановлено, що в присутності аніонних поверхнево-активних речовин (АПАР) відбувається значне зниження енергії триплетного рівня ліганду на 1850 см^{-1} . При цьому енергія триплетного рівня ПК складає 20500 см^{-1} . Це безумовно сприяє зменшенню безвипромінювальних втрат енергії збудження і більш ефективній передачі енергії на іон лантаніду. Про це свідчить і зростання часу життя комплексу у присутності АПАР. Як показав експеримент, час життя комплексу в присутності додецилсульфату натрію зростає в 2.4 рази й становить 362 мкс (150 мкс у відсутності АПАР). Отримані результати підтверджують

припущення про те, що молекули аніонного ПАР, що входять у внутрішню сферу комплексу, сприяють його дегідратації й тим самим зменшенню безвипромінювальних втрат енергії збудження.

Висока $I_{\text{люм}}$ Eu (III) із ПК на ксерогелі може бути використана для визначення ПК у живильних середовищах. У якості модельного був використаний м'ясо-пептоний бульйон, що містить в 1 л м'ясного водного екстракту 10 г пептону й 10 г NaCl у який вводили різні кількості ПК. У попередніх дослідях було встановлено, що пептон у кількості 2-10 мг, а NaCl у кількості 5-20 мг не впливають на $I_{\text{люм}}$ комплексу Eu (III) на ксерогелі. На підставі вищевикладеного запропонована наступна методика визначення піпемідієвої кислоти.

Хід аналізу: 60 мг ксерогеля, модифікованого іонами Eu, поміщають у хімічну склянку, додають 0,5 мл бульйону з добавкою піпемідієвої кислоти, додають 0,5 мл 0,01 моль/л додецилсульфату натрію, 0,2 мл 40 %-ного розчину уротропіну й дистильовану воду до 5 мл. Проводять сорбцію при перемішуванні протягом 5 хвилин. Потім сорбент відфільтровують, промивають дистильованою водою й висушують при температурі 95-100°C протягом 10 хв. Інтенсивність люмінесценції сорбату Eu (III) вимірюють при 612 нм. Вміст ПК у живильному середовищі визначають за калібрувальним графіком або візуально порівнюючи $I_{\text{люм}}$ Eu (III) на ксерогелі з еталонними зразками. Лінійна залежність $I_{\text{люм}}$ Eu (III) від концентрації ПК спостерігається в інтервалі концентрацій останнього 0,005-0,1 мкг/мл. Точність і вірогідність визначення перевірена методом статистичної обробки результатів визначення. При $n = 5$ і $P = 0.95$ величина відносного стандартного відхилення (S_r) становить 0,07. Межа виявлення ПК, розрахована за 3σ критерієм становить 0,001 мкг/мл.

Література

1. Ba B.B., Dicint D., Fourtillan M., Saux M.-C. J.Chromatogr.B.- 1998.- V.714.- P.317-324.
2. Wright D.H., Herman V.K., Konstantinides F.N., Rorschafer J.C. J. Chromatogr. B. – 1998. – V. 709, № 1, – P. 97 – 104.
3. Бркіч Г.Э., Арзамасцев А.П., Кузьмина Э.М., Михалев А.В. Химико-фарм. журнал.- 1999.- Т.33.- № 4.- с.48-50.
4. Russain M.S., J.Chromatogr.B. Biomed.Appl.– 1995.– V.663.- N 2.– P.379-384.
5. Takatsuki K. J.Chromatogr.– 1991.– V.538.– P.259-263.
6. Guo L., Wang Y.Z., Zin J. Anal. Abstr.– 1996.– V.111.– P.83-87.
7. Montay G., Vigauroux M., Rogeut F., Reynier M. Therapie.– 1977.– V.5.– P. 553 – 561.
8. Hideharu I., Michiko I., Masakob M., Minori J., Kitaro O. Antimicrob Agents and Chemother. 1985. – V.2 – P. 192 – 194.
9. He Y.– N. Chen H. Elektroanalysis. – 1997.– V.9.- № 18.– P.1426-1428.
10. Meng Q., Zhang H., Wang S. et al. Materials Lett.– 2000.– V.45.– P.213-216
11. Egorova A., Beltyukova S., Teslyuk O. J.Pharm.Biomed.Analysis.- 1999.- V.21.- N 3.- P.585-590.

Поступила в редакцію 19 апреля 2007 г.

Kharkov University Bulletin. 2007. №770. Chemical Series. Issue 15(38). Beltyukova S.V., Malynka O.V., Liventsova O.O., Teslyuk O.I. Test-determination of pipemidic acid in nutrient media.

The possibility of using the sensitized luminescence of the europium ions complexes with pipemidic acid on the xerogel for the determination of pipemidic acid in nutrient media has been demonstrated. The simple and high sensitive solid phase method has been developed for the determination of pipemidic acid with detection limit 0,001 $\mu\text{g/mL}$.