

УДК 543.426:543.862

ФОСФОРЕСЦЕНЦИЯ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НАФТАЛИНОВОГО РЯДА В ВОДНЫХ СРЕДАХ

Е.М. Рехарская, Т.В. Поленова, А.Г. Борзенко

(кафедра аналитической химии; email: polenova@analyt.chem.msu.ru)

Определены оптимальные условия наблюдения флуоресценции при комнатной температуре в водных и циклодекстриновых средах для лекарственных препаратов, содержащих в своей структуре нафталиновое кольцо: нафазолин, нафтидрофурил и пропранолол. Показана возможность применения данного метода для определения индивидуальных компонентов в смеси.

В медицинской практике в качестве лекарственных препаратов часто используют нафталиновые производные. К ним, в частности, относятся: нафазолин, нафтидрофурил и пропранолол (рис. 1).

Нафазолин (НАФ) принадлежит к группе α -адреномиметических препаратов. Он обладает сосудосуживающими свойствами, поэтому при нанесении на слизистые оболочки оказывает противовоспалительное противоотечное действие.

Нафтидрофурил (НФЛ) является вазодилатором, расширяющим периферические сосуды, улучшающим кровоснабжение и кислородное обеспечение тканей.

Пропранолол (ПРО) относится к группе β -адреноблокаторов, действующих как на β_1 , так и на β_2 -адренорецепторы. Он ослабляет влияние симпатической импульсации на β -адренорецепторы сердца, вследствие чего уменьшаются сила и частота сердечных сокращений [1].

В последние годы НФЛ и ПРО используются спортсменами в качестве допинговых препаратов и по этой причине внесены Международным Олимпийским комитетом в список запрещенных препаратов.

Злоупотребление ими может вызвать нарушение физиологических процессов в человеческом организме, поэтому задача проведения контроля за этими препаратами в настоящее время очень актуальна.

Для определения лекарственных препаратов требуются, как правило, высокоселективные и чувствительные методы. К наиболее применяемым следует отнести высокоэффективную жидкостную хроматографию [2], газовую хроматографию [3] и флуоресцентную спектроскопию [4]. Однако далеко не всегда хроматографические методы демонстрируют высокую чувствительность при определении исследуемых препаратов. В случае же использования флуоресценции для селективного определения нафталиновых производных анализ может осложняться неудобной спектральной областью регистрации, искажением спектра, вызванным перепоглощением флуоресценции одного компонента другим, свечением сопутствующих примесей. По-видимому, для определения нафталиновых производных наиболее целесообразно использование флуоресценции, поскольку триплетные состояния молекул определяе-

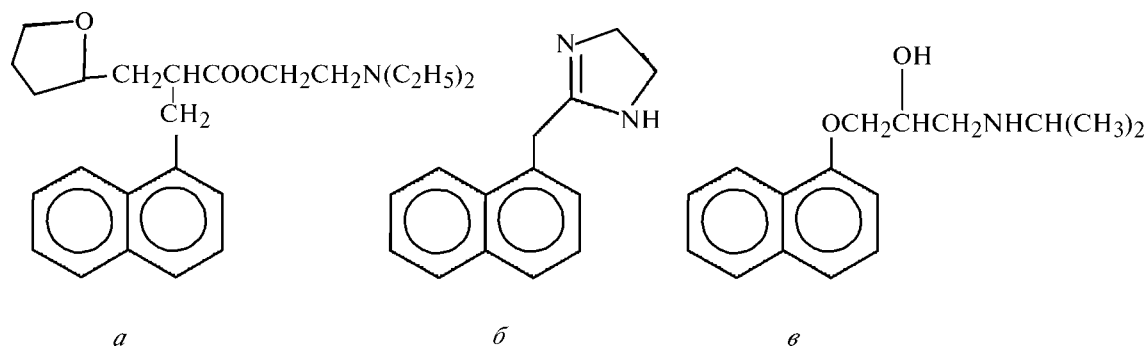


Рис. 1. Структурные формулы исследуемых соединений нафазолина (а), нафтидрофурила (б) и пропранолола (в)

мых веществ оказываются более характеристичными по сравнению с синглетными.

В настоящее время для этих целей широко применяется метод, основанный на измерении интенсивности флуоресценции при комнатной температуре (ФКТ). Долгое время считалось, что для получения ощутимого сигнала требуется наличие защитной среды (ПАВ, циклодекстрины, пены и т.д.) и “тяжелого атома” при отсутствии молекулярного кислорода [5]. Однако недавние исследования показали, что некоторые вещества флуоресцируют даже в том случае, если они не помещены в организованные среды [6]. К таким соединениям относятся, в частности, нафталиновые производные. При выборе условий ФКТ важным вопросом является выбор реагента, усиливающего интенсивность флуоресценции так называемого “тяжелого атома”. Как правило, при формировании ФКТ-сигнала в мицеллярных средах в качестве такого реагента применяют нитрат таллия, в цик-

лодекстриновых средах – органические неполярные комплексы, в растворах без использования организованных сред – нитрат таллия или иодид калия [7]. Для удаления кислорода в большинстве случаев используют сульфит натрия.

ФКТ может быть использована для определения индивидуальных соединений как в фармацевтических препаратах [8–10], так и в смесях различных соединений. Известно, что не все флуоресцирующие соединения способны флуоресцировать, а это значительно увеличивает селективность анализа, которую также повышает использование техники временной селекции аналитического сигнала флуоресценции [11].

Цель настоящей работы состояла в изучении возможности применения флуоресценции при комнатной температуре для определения нафазолина, нафтидрофурила (нафронил) и пропранолола в сложных смесях лекарственных препаратов.

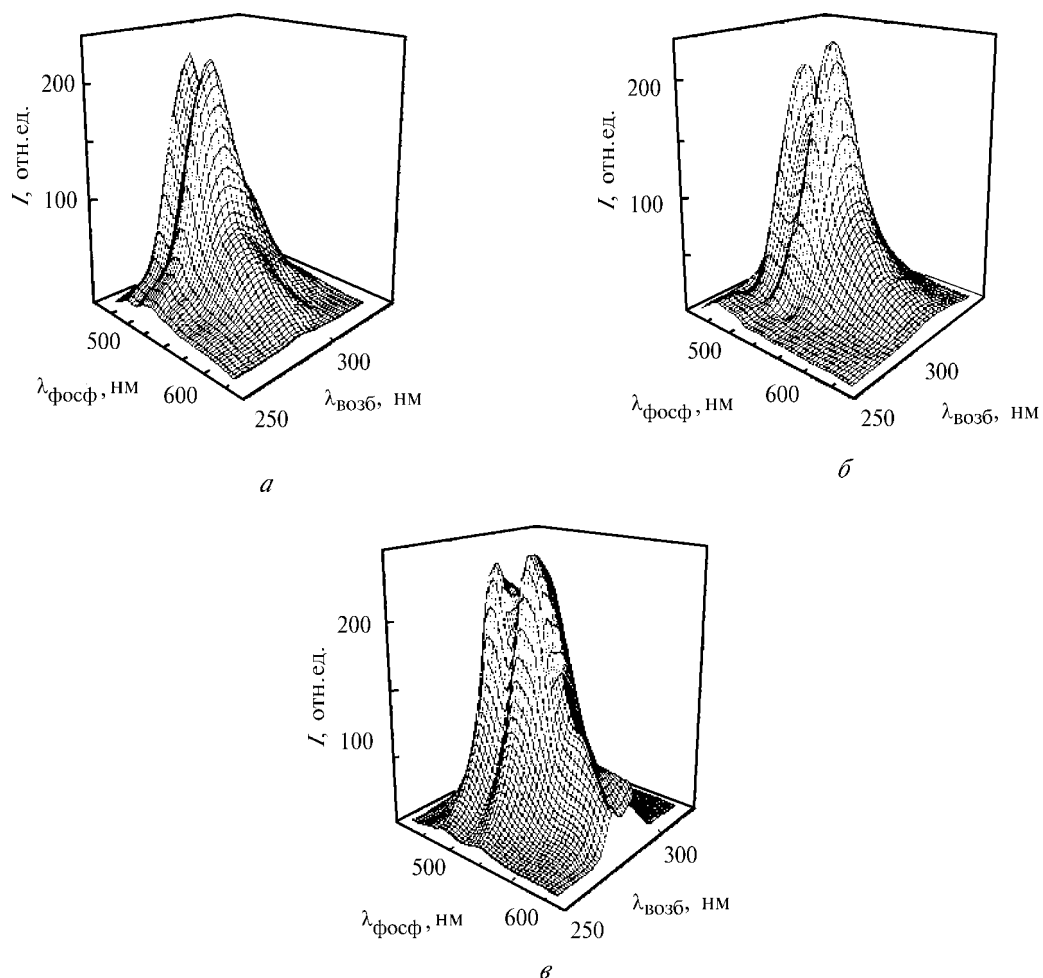


Рис. 2. Спектры флуоресценции для НАФ (а), НФЛ (б) и ПРО (е)

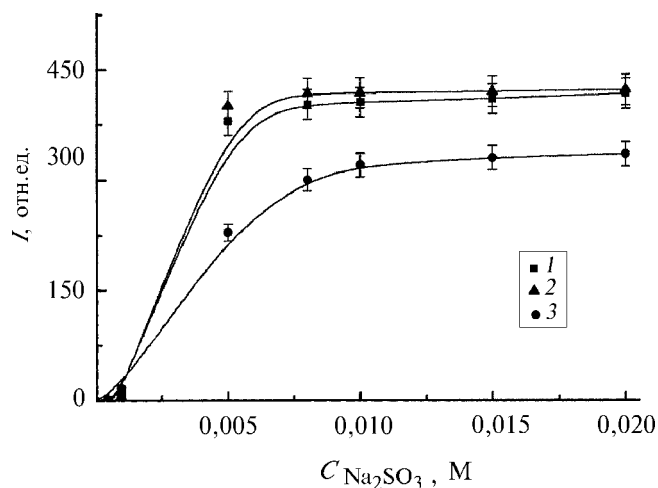


Рис. 3. Зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации сульфита натрия: 1 – НАФ, 2 – НФЛ, 3 – ПРО

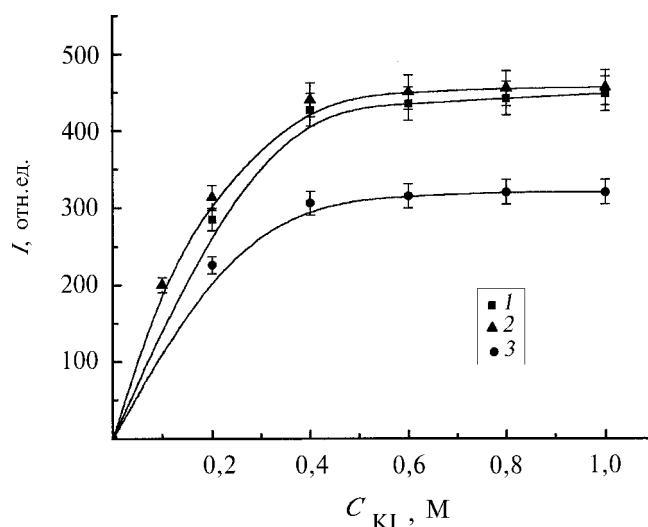


Рис. 4. Зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации иодида калия: 1 – НАФ, 2 – НФЛ, 3 – ПРО

Экспериментальная часть

Реактивы. В работе использовали нафазолин гидрохлорид (*Sigma*, США), нафтидрофурил (нафронил) оксалат (*Sigma*, США), пропранолол гидрохлорид (*Wako*, Япония), β -циклодекстрины (β -ЦД) (*Sigma*, США), нитрат таллия, бромид калия, хлорид калия (*Химмед*, Россия). Иодид калия и сульфит натрия (*Химмед*, Россия) дважды перекристаллизовывали из водных растворов. Растворы сульфита натрия готовили непосредственно перед измерениями. Для приготовления растворов использовали бидистиллированную воду, полученную с помощью системы очистки воды *Milli-Q* (*Millipore*, Франция).

Оборудование. Спектры флуоресценции растворов измеряли на спектрофлуориметре «Панорама» («Люмекс», Россия). Для измерения использовали кварцевые кюветы ($l = 1$ см).

Приготовление растворов. Методика 1. В колбу емкостью 10 мл помещали 0,1 мл исходного раствора с концентрацией $3 \cdot 10^{-4}$ М, 0,66 г иодида калия, 1 мл 0,1 М раствора сульфита натрия и доводили до метки $5 \cdot 10^{-3}$ М раствором β -ЦД. Полученный раствор тщательно перемешивали.

Методика 2. В колбу емкостью 10 мл помещали 0,1 мл исходного раствора с концентрацией $3 \cdot 10^{-4}$ М, 0,66 г иодида калия, 1 мл 0,1 М раствора сульфита натрия и доводили до метки бидистиллированной водой. Полученный раствор тщательно перемешивали.

Спектральные характеристики. Длины волн возбуждения исследуемых соединений выбирали на основании анализа спектров поглощения, характеризу-

ющихся широкими полосами с близкими максимумами и коэффициентами молярного поглощения. Так, величины $\lambda_{\text{возб}}$ составляют 278, 284 и 290 нм для НАФ, НФЛ и ПРО соответственно.

Спектры возбуждения–эмиссии (ВЭ) флуоресценции водных растворов нафазолина, нафтидрофурила и пропранолола представлены на рис. 2. Спектры были получены при следующих условиях сканирования: ширина щели монохроматоров 14 нм, время задержки измерения строба 40 мкс, время длительности измерения строба 1000 мкс, скорость сканирования 5 нм/с. Спектры флуоресценции исследуемых соединений

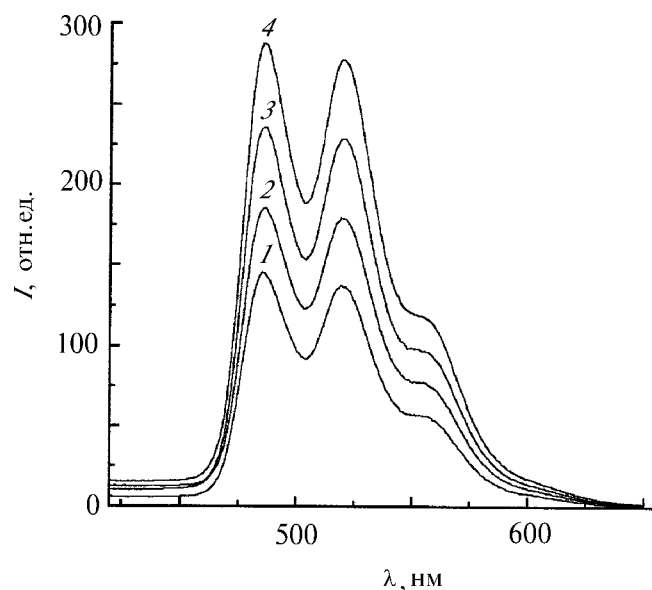


Рис. 5. Спектры флуоресценции ПРО при различных концентрациях β -ЦД (М): 1 – $1 \cdot 10^{-5}$, 2 – $1 \cdot 10^{-4}$, 3 – $1 \cdot 10^{-3}$, 4 – $1 \cdot 10^{-2}$

Т а б л и ц а 1

Время жизни фосфоресценции в водных и циклодекстриновых средах

Соединение	Водные среды	Циклодекстриновые среды
	время жизни (мкс)	
НАФ	406±12	132±10
НФЛ	507±23	601±30
ПРО	424±22	125±14

весьма похожи и характеризуются широкими полосами с близкими максимумами при длинах волн 487 и 515 нм для НАФ, 491 и 518 нм для НФЛ, 492 и 520 нм для ПРО.

Результаты и обсуждение

Влияние сульфата натрия. Существует много разных способов удаления кислорода из растворов. Одним из наиболее простых в практическом плане является добавление в исследуемый раствор сульфата натрия. Важным преимуществом этого способа является то, что он значительно дольше защищает раствор от действия кислорода. В водных растворах при температуре 25°C действие сульфата натрия проявляется практически сразу после добавления. В случае β-ЦД среды требуется несколько большее время (около 10 мин). Концентрацию сульфата натрия варьировали в диапазоне $1 \cdot 10^{-3}$ – $2 \cdot 10^{-2}$ М (рис. 3). Как следует

из приведенных данных, начиная с концентрации $1 \cdot 10^{-2}$ М, интенсивность ФКТ относительно слабо меняется с увеличением концентрации сульфата натрия. Эту концентрацию в дальнейшем использовали для приготовления всех растворов.

Влияние «тяжелого атома». Для усиления фосфоресценции без применения организованных сред изучаемых соединений в качестве «тяжелого атома» часто используют иодид калия. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что интенсивность ФКТ-сигнала при использовании иодида калия в качестве такого реагента выше, чем в случае других атомов: таллия, бромиды и хлорида. Этот факт, по-видимому, может быть объяснен электростатическим взаимодействием протонированных аминогрупп люминофора с ионом иодида. Концентрацию иодида калия варьировали в диапазоне 0,01–1,5 М. Как видно из рис. 4, начиная с концентрации иодида калия 0,4 М, интенсивность ФКТ достаточно слабо изменяется с увеличением концентрации.

Влияние β-циклодекстрина. Применение циклодекстриновых сред значительно улучшает селективность фосфориметрических определений. В настоящей работе была изучена зависимость интенсивности фосфоресцентного сигнала от концентрации β-ЦД (рис. 5). Увеличение концентрации β-ЦД приводит к увеличению интенсивности фосфоресцентного сигнала. Аналогичные зависимости получены для всех изученных соединений.

Время жизни фосфоресценции в водных и циклодекстриновых средах представлены в табл. 1. Необходимо отметить, что в случае водных растворов времена жизни фосфоресценции НАФ, НФЛ и ПРО от-

Т а б л и ц а 2

Метрологические характеристики определения НАФ, НФЛ и ПРО с использованием ФКТ

Соединение	Среда	Диапазон линейности (М)	Коэффициент корреляции	Предел обнаружения (М)
НАФ	КI	$6 \cdot 10^{-7}$ – $8 \cdot 10^{-5}$	0,999	$1,3 \cdot 10^{-7}$
	КI + β-ЦД		0,996	$1,6 \cdot 10^{-7}$
НФЛ	КI	$5 \cdot 10^{-7}$ – $3 \cdot 10^{-5}$	0,999	$1,7 \cdot 10^{-7}$
	КI + β-ЦД		0,997	$1,3 \cdot 10^{-7}$
ПРО	КI	$7 \cdot 10^{-7}$ – $3 \cdot 10^{-5}$	0,999	$2,2 \cdot 10^{-7}$
	КI + β-ЦД		0,996	$2,4 \cdot 10^{-7}$

личаются незначительно, и такое различие не может быть использовано для временной селекции аналитического сигнала при определении этих соединений. Переход к организованным средам на основе β -ЦД приводит к увеличению времени жизни фосфоресценции НФЛ, а для НАФ и ПРО наблюдается тушение фосфоресценции. Подобное различие открывает перспективу использования временной селекции для определения НФЛ в присутствии НАФ и ПРО. Прогнозируемое изменение времени регистрации интенсивности сигнала ФКТ позволяет избирательно регистрировать спектр фосфоресценции только нафтидрофурила. Предлагаемый подход позволяет существенно улучшить селективность определения компонентов сложных смесей, поскольку традиционные подходы, применяемые в классической фосфориметрии, оказываются малоэффективными ввиду сильного перекрытия спектров фосфоресценции.

Метрологические характеристики определения НАФ, НФЛ и ПРО представлены в табл. 2.

Было исследовано влияние других лекарственных

препаратов на результаты определения. Для этих целей определение НАФ, НФЛ и ПРО проводили в присутствии в анализируемой пробе посторонних препаратов, относящихся к соответствующим фармакологическим группам. Из группы α -адреномиметических препаратов были выбраны ксилонметазолин и метазон, из группы вазодилаторов – ганглерон и дипрофен, а из группы β -адреноблокаторов – окспренолол и надолол. Полученные результаты свидетельствуют о том, что присутствие сопутствующих препаратов в анализируемой пробе практически не влияет на правильность определений.

Таким образом, измерены спектры и времена жизни фосфоресценции трех соединений в присутствии добавок, увеличивающих квантовые выходы и влияющих на времена жизни фосфоресценции. Показана возможность применения фосфоресценции при комнатной температуре для определения исследуемых соединений в присутствии других лекарственных препаратов, а также определены оптимальные условия проведения измерений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Машковский М.Д.* Лекарственные средства. Т. 1. Харьков, 1997.
2. *Brodie R.R., Chasseaud L.F., Taylor T., Hunter J.D.* // J. Chromatogr. 1979. **164**. P. 534.
3. *Walmsley L.M., Wilkinson P.A., Brodie R.R., Chasseaud L.F.* // J. Chromatogr. 1985. **338**. P. 433.
4. *Pulgarin J.A., Molina A.A., Lopez P.F.* // Anal. Chim. Acta. 1998. **370**. P. 9.
5. *Arancibia J. A., Escandar G.M.* // Analyst. 2001. **126**. P. 917.
6. *Li L., Zhao Y., Wu Y., Tong A.* // Talanta. 1998. **46**. P. 1147.
7. *Segura-Carretero A., Cruces-Blanco C., Canabe-Diaz B., Fernandez-Sanchez J.F.* // Anal. Chim. Acta. 2000. **417**. P. 19.
8. *Fernandez-Gutierrez A., Segura-Carretero A., Canabe-Diaz B., Cruces-Blanco C.* // Applied Spectroscopy. 1999. **53**. P. 741.
9. *Pulgarin J.A., Molina A.A., Lopez P.F.* // Anal. Chim. Acta. 1999. **382**. P. 77.
10. *Rapado Martinez I., Villanueva Camanas R.M., Garcia-Alvarez-Coque M.C.* // Analyst. 1994. **119**. P. 1093.
11. *Романовская Г.И., Королева М.В., Блинов А.Н., Зуев Б.К.* // ЖАХ. 1999. **54**. 7. С. 706.

Поступила в редакцию 10.10.03

PHOSPHORESCENCE OF SOME NAPHTHALENE DERIVATIVE DRUGS IN WATER MEDIA

E.M. Rekharsky, T.V. Polenova, A.G. Borzenko

(Division of Analytical Chemistry)

The sensitivity of room temperature phosphorimetry (RTP) makes it useful analytical tool for monitoring compounds of biochemical interest such as drugs. In the present paper, RTP spectra of three compounds with closely overlapping spectra: nafronyl, naphazoline and propranolol produced by organized medium such as cyclodextrins (CD-RTP) and by heavy atoms without protective media were analyzed. The use of phosphorescence enhancers (external heavy atoms) and sodium sulfite (deoxygenation agent) were studied and optimized. The best working conditions in the investigated systems were proposed for the determination of each component alone and in mixture. The qualities and limitations of each system are discussed. Time-resolved room temperature phosphorimetry have provided a convenient means for analyzing mixture of investigated drugs.