

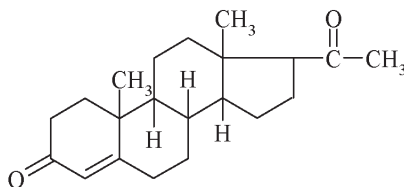
УДК 543.426: 546.65: 547.831.9.

**И. И. Леоненко, Д. И. Александрова, А. В. Егорова, В. П. Антонович,
И. В. Украинец**Физико-химический институт им. А. В. Богатского НАН Украины
Люстдорфская дорога, 86, Одесса, 65080, Украина**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОГЕСТЕРОНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭФФЕКТА
ТУШЕНИЯ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ КОМПЛЕКСНОГО СОЕДИНЕНИЯ
Ть(III)**

Изучены спектрально-люминесцентные характеристики комплекса Ть(III) с пиколинсодержащим амидом гидроксохинолинкарбоновой кислоты (R). Установлено, что в оптимальных условиях образования комплекса Ть(III):R = 1:1 интенсивность 4f-люминесценции существенно уменьшается в присутствии лекарственного препарата прогестерон (Прог). Обнаруженный эффект тушения использован для люминесцентного определения Прог в дозированных лекарственных формах с пределом обнаружения 0.17 мкг/мл. Градуировочный график в координатах Штерна-Фольмера линейен в интервале концентраций Прог 0.5–500.0 мкг/мл.

Ключевые слова: сенсibilизированная люминесценция, тербий, прогестерон.

Прогестерон (Прог) — основной гормон желтого тела яичников. По химическому строению является стероидным гормоном [1], способствует пролиферации слизистой оболочки матки, облегчает имплантацию оплодотворенного яйца.



Прогестерон

Ранее было предложено несколько методов определения прогестерона в биообъектах: спектрофлуориметрия [2], твердофазная хемилюминесценция [3], ВЭЖХ [4–56], полярография [7], радиоиммунный [8], иммуноферментный [9] и иммунофлуоресцентный анализ [10, 11]. Однако большинство предлагаемых методов трудоемки и не всегда обеспечивают нужную точность и чувствительность определения. Известно высокочувствительное определение прогестерона после ВЭЖХ разделения с помощью комплексного соединения с ионами тербия [12]. Сенсibilизированная люминесценция лантанидов (Ln) в их комплексных соединениях с органическими лигандами широко используется для определения лекарственных препаратов [13] в дозированных формах и в различных биологических жидкостях.

Установлена возможность косвенного определения солей органических оснований по влиянию их анионов на интенсивность люминесценции ($I_{\text{люм}}$) комплексов Ln(III)-сенсibilизатор [14].

Особый интерес в последние годы вызывает возможность аналитического использования не только явления сенсibilизации люминесценции ионов лантанидов, но и ее тушения или увеличения для косвенного определения ряда лекарственных препаратов, которые не сенсibilизируют люминесценцию лантанидов. Данный эффект широко используется для определения различных препаратов: антибиотика зидовудина по увеличению интенсивности люминесценции комплекса Eu(III) с теноилтрифторацетоном [15]; бензофенонов, являющихся метаболитами 1,4-бенздиазепинов, по тушению их собственной фосфоресценции ацетилацетонатными хелатами некоторых лантанидов (Sm(III), Eu(III), Gd(III), Tb(III) и Dy(III)) и увеличению сенсibilизированной люминесценции лантанидов [16]; гормона щитовидной железы — тироксина по тушению интенсивности люминесценции комплекса Eu(III) с пиридин-2,6-дикарбоновой кислотой [17]; катехоламинов по тушению сенсibilизированной люминесценции ионов Tb(III) в тройном комплексе Tb(III) — сульфосалициловая кислота — ЭДТА [18]; допамина по увеличению $I_{\text{люм}}$ комплекса Eu(III) с хлорсульфонилтеноилтрифторацетоном [19]; эноксацина по увеличению $I_{\text{люм}}$ комплекса Tb(III) — ацетилацетон [20], антибиотиков цефалоспоринового ряда [21], омепразола [22] по тушению интенсивности люминесценции ионов Tb(III) и его комплекса с фенантролином, рамиприла по тушению интенсивности люминесценции комплекса Sm(III) с доксициклином [23]

В данной работе показана новая возможность определения прогестерона по тушению $I_{\text{люм}}$ зонда — комплекса Tb(III) — R, где в качестве сенсibilизатора R использован 1-бутил-4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохиолин-3-карбоновой кислоты-(4-метил-пиридин-2-ил)-амид, синтезированный по [24].

Материалы и методы

В работе использовали стандартный раствор хлорида тербия (0.01 моль/л), который готовили из соответствующего оксида высокой чистоты. Концентрацию металла определяли комплексонометрически.

Стандартный раствор реагента-сенсibilизатора R — 1-бутил-4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохиолин-3-карбоновой кислоты-(4-метил-пиридин-2-ил)-амида (1×10^{-3} моль/л) готовили растворением точной навески препарата в диметилформамиде. Раствор прогестерона (1000 мкг/мл) готовили растворением точной навески препарата в этиловом спирте. В работе использовали субстанцию прогестерона (фарм.), а также все реактивы квалификации ч. д. а. и х. ч., вода — бидистиллированная.

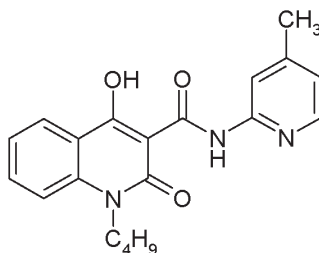
Спектры возбуждения люминесценции и люминесценции, а также кривые ее затухания регистрировали с помощью спектрофлуориметра Cary Eclipse (Varian) с ксеноновой лампой 150 W. Все измерения проводили при комнатной температуре (21–23 °С). Электронные спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре UV-2401 PC (Shimadzu) с использова-

нием кварцевых кювет ($l = 1$ см). Значения времен жизни возбужденного состояния ионов тербия вычисляли с использованием программного обеспечения Cary Eclipse. Значения энергии триплетного уровня R определяли из спектров фосфоресценции гадолиниевого комплекса, регистрируемого при 77°K [25].

Значения pH растворов измеряли с помощью pH-метра Lab 850 (Schott Instruments GmbH, Germany) со стеклянным электродом, калибровку которого проводили с помощью стандартных буферных растворов.

Результаты и их обсуждение

Спектрально-люминесцентные характеристики зонда. Установлены спектрально-люминесцентные характеристики лиганда 1-бутил-4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновой кислоты-(4-метил-пиридин-2-ил)-амида (R) и его комплексного соединения с тербием (III).



R

Спектр поглощения R в водно-диметилформамидном растворе (50/50 об/об) характеризуется наличием интенсивной полосы в УФ-области спектра с максимумом при 313 нм ($\epsilon = 2.46 \times 10^4$ л \times моль⁻¹ \times см⁻¹). Триплетный уровень R составляет 22150 см⁻¹ и превышает энергию уровня первого возбужденного состояния ионов Tb(III) (⁵D₄; 20500 см⁻¹), что определяет возможность внутримолекулярной передачи поглощенной энергии с лиганда на энергетический уровень лантанида.

С целью оптимизации аналитического сигнала изучено влияние кислотности среды, поверхностно-активных веществ (ПАВ), донорно-активных веществ (ДАВ) и растворителей. Максимальная $I_{\text{люм}}$ в системе Tb(III)–R наблюдается при pH 7.0–9.5. Изучено влияние ПАВ различной природы: Тритона X-100, Бридж-35, Твин-80, цетилсульфата и лаурилсульфата натрия, цетилпиридиний хлорида и бромиды, октадецилпиридиний хлорида, а также ДАВ (1,10-фенантролина, α , α , -дипиридила, трифенилфосфиноксида) и растворителей различной природы (метанола, этанола, n-пропанола, изопропанола, ацетонитрила, ацетона, диметилформамида и диметилсульфоксида) на люминесцентные свойства комплексов. Установлено, что перечисленные ПАВ, ДАВ и растворители не оказывают значительного влияния на интенсивность люминесценции ионов тербия в данном комплексе и максимальная $I_{\text{люм}}$ наблюдается в водной среде.

По люминесцентным данным методом ограниченного логарифмирования установлено, что в условиях недостатка реагента образуется комплекс с соотношением компонентов Tb(III):R = 1:1 ($C_{\text{Tb(III)}} = 1 \times 10^{-5}$ моль/л; $C_{\text{R}} = (1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-5})$ моль/л), а при его избытке — 1:3 ($C_{\text{Tb(III)}} = 1 \times 10^{-5}$ моль/л; $C_{\text{R}} = (3 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-4})$ моль/л).

Спектры возбуждения и люминесценции комплекса тербия с R представлены на рис. 1.

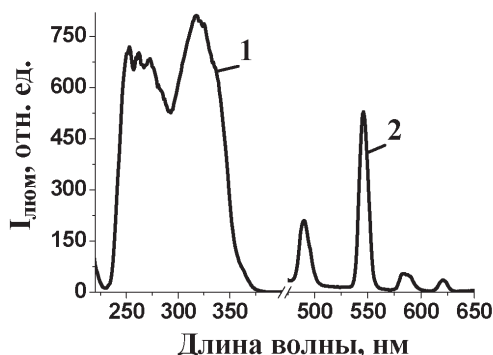


Рис. 1. Спектры возбуждения (1) и люминесценции (2) комплекса Tb(III)-R ($C_{\text{Tb(III)}} = C_{\text{R}} = 1 \times 10^{-5}$ моль/л)

Для комплексов рассчитаны времена жизни, которые составили 850 мкс для Tb(III)-R и 1130 мкс для Tb(III)-R₃. Присоединение второго и третьего лиганда приводит к возрастанию времени жизни люминесценции, что свидетельствует об уменьшении безызлучательной дезактивации энергии возбуждения.

Обнаружено, что введение разных количеств прогестерона в водные растворы комплекса Tb(III)-R ($C_{\text{Tb(III)}} = C_{\text{R}} = 1 \times 10^{-5}$ моль/л) при pH = 7.0-9.5 вызывает уменьшение 4f-люминесценции (рис. 2).

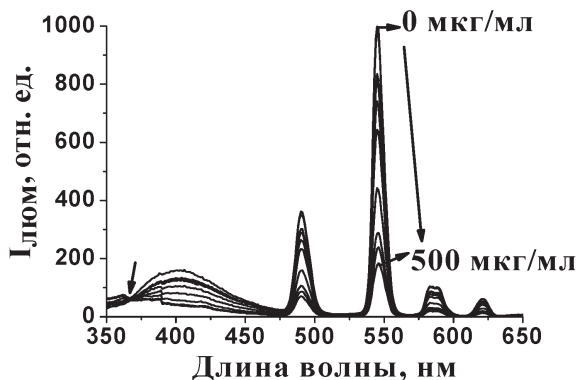


Рис. 2. Спектры люминесценции комплекса Tb(III)-R в присутствии различных концентраций Прог ($C_{\text{Tb(III)}} = C_{\text{R}} = 1 \times 10^{-5}$ моль/л; $\lambda_{\text{возб}} = 317$ нм)

Известно, что к тушению может приводить множество процессов, в том числе реакции в возбужденном состоянии, перенос энергии, образование комплексов и тушение при столкновениях [26]. Можно предположить, что обнаруженный нами эффект тушения прогестероном 4f-люминесценции комплекса Tb(III)-R обусловлен взаимодействием связанного лиганда — сенсбилизатора с молекулой тушителя — прогестерона и образованием аддукта Tb(III)-R-Прог. В пользу такой гипотезы свидетельствуют следующие экспериментальные данные (рис. 3, 4).

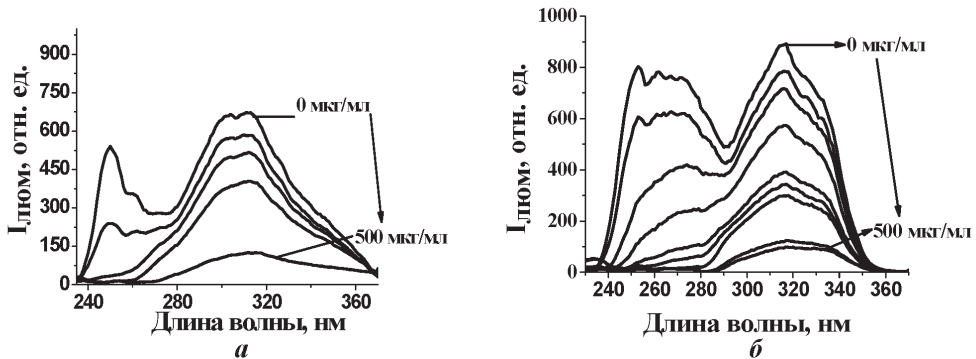


Рис. 3. Спектры возбуждения R (а) и комплекса Tb(III)-R (б) в присутствии различных концентраций Прог ($C_{\text{Tb(III)}} = C_{\text{R}} = 1 \times 10^{-5}$ моль/л; $\lambda_{\text{эмис}} = 402$ нм (а); $\lambda_{\text{эмис}} = 545$ нм (б))

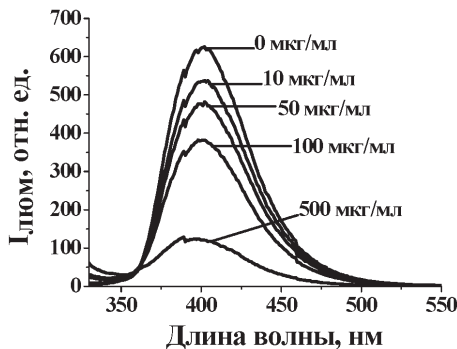


Рис. 4. Спектры собственной люминесценции реагента-сенсбилизатора в присутствии различных концентраций Прог ($C_{\text{R}} = 1 \times 10^{-5}$ моль/л; $\lambda_{\text{возб}} = 317$ нм)

В спектрах возбуждения реагента R и комплекса Tb(III)-R с увеличением концентрации прогестерона полосы свободного реагента-сенсбилизатора R (рис. 3 а) и связанного в тербиевый комплекс (рис. 3 б) в интервале длин волн 240–360 нм закономерно уменьшаются до полного исчезновения полосы в интервале длин волн 250–270 нм. Из рис. 4 следует, что интенсивность собственной люминесценции R уменьшается с увеличением концентрации Прог. Существенно, что при тушении прогестероном 4f — люминесценции зонда

Tb(III)-R ($\lambda_{эм} = 545$ нм) время жизни (τ) (рис. 5) его возбужденного состояния не изменяется (875 ± 15) мкс в 50% этаноле). Все изложенное можно интерпретировать в рамках статического механизма тушения [26], при котором тушитель Прог. взаимодействует не с излучающим ионом Tb(III), а с лигандом в комплексе Tb(III)-R. При этом происходит безызлучательная потеря энергии возбуждения и уменьшение сенсibilизированной 4f-люминесценции Tb(III).

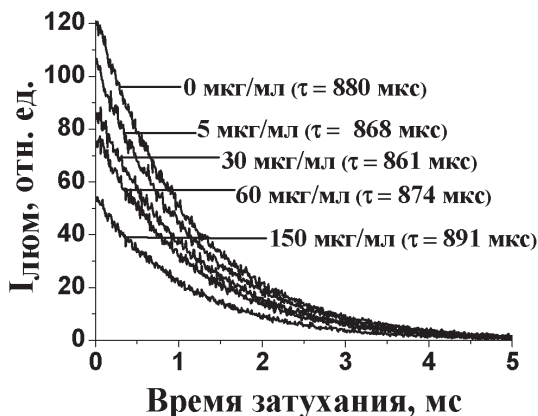


Рис. 5. Кривые затухания люминесценции комплекса Tb(III)-R ($C_{Tb(III)} = C_R = 1 \times 10^{-5}$ моль/л) в присутствии различных концентраций прогестерона

Зависимость I_0/I от $C_{Прог}$ (градуировочный график в координатах Штерна-Фольмера — рис. 6) описывается уравнением $I_0/I = 1.05 + 0.008C_{Прог}$ ($R = 0.997$) и линейна в интервале концентраций Прог 1.0–500.0 мкг/мл. Предел обнаружения составляет 0.35 мкг/мл.

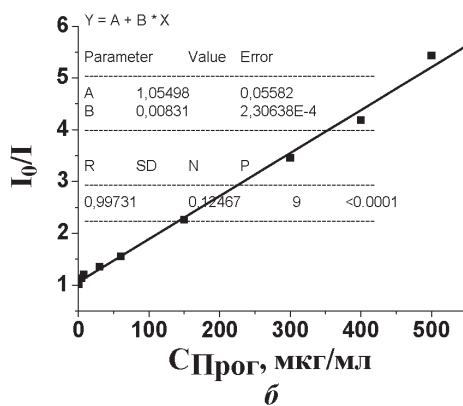
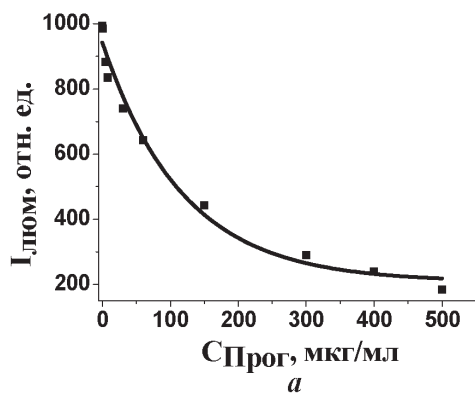


Рис. 6. Зависимость $I_{люм}$ комплекса Tb(III)-R от концентрации прогестерона (а) и градуировочный график в координатах Штерна-Фольмера (б) для его определения ($C_{Tb(III)} = C_R = 1 \times 10^{-5}$ моль/л, pH = 7.5)

Методики количественного определения

Градуировочный график

Для построения градуировочного графика в ряд мерных колб объемом 10.0 мл вносили по 0.1; 0.5; 0.8 мл рабочего раствора прогестерона (100 мкг/мл) и 0.3; 0.6; 1.5; 3.0; 4.0; 5.0 мл рабочего раствора прогестерона (1000 мкг/мл). В каждую колбу добавляли по 1.0 мл 1×10^{-4} моль/л раствора хлорида тербия (III), 0.1 мл 1×10^{-3} моль/л раствора R, 0.4 мл 40%-ного раствора уротропина. Все растворы стандартизировали по этиловому спирту (50%). Параллельно готовили раствор контрольной пробы, который содержит все компоненты, кроме Прог. Растворы доводили до 10.0 мл водой и перемешивали. Через 5 минут измеряли $I_{\text{люм}}$ при $\lambda_{\text{эмис}} = 545$ нм ($\lambda_{\text{возб}} = 317$ нм). По полученным данным строили градуировочный график в координатах Штерна-Фольмера.

Ход анализа

а) капсулы «Утрожестан» (100 мг)

Тщательно перемешивали содержимое 20 капсул. Навеску (m_1 , г), соответствующую средней массе капсулы, содержащей 100 мг Прог, переносили в мерную колбу объемом 100.0 мл, прибавляли 50 мл этилового спирта и нагревали до 30–40 °С. После охлаждения раствор доводили до метки этиловым спиртом и фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента», отбрасывая первые порции фильтрата. Из полученного раствора на анализ брали 1.0 мл фильтрата в мерную колбу объемом 10.0 мл. Далее добавляли все реагенты, как при построении градуировочного графика, и измеряли $I_{\text{люм}}$ исследуемого раствора ($I_{\text{пр}}$) при $\lambda_{\text{эмис}} = 545$ нм ($\lambda_{\text{возб}} = 317$ нм).

Параллельно измеряли $I_{\text{люм}}$ раствора рабочего стандартного образца (PCO) Прог ($I_{\text{ст}}$): 0.100 г прогестерона (m_0) растворяли в 50.0 мл этилового спирта и доводили этиловым спиртом до 100 мл. 1.0 мл полученного раствора (1000 мкг/мл) вносили в мерную колбу объемом 10.0 мл, далее добавляли все реагенты, как при построении градуировочного графика. Раствор использовали свежеприготовленным.

Готовили раствор контрольной пробы, который содержал все компоненты, кроме Прог. Изменяли $I_{\text{люм}}$ контрольной пробы (I_0) в указанных выше условиях.

При расчете интенсивностей люминесценции I_1 и I_2 учитывали $I_{\text{люм}}$ контрольной пробы по формулам: $I_1 = I_0/I_{\text{пр}}$ и $I_2 = I_0/I_{\text{ст}}$

Содержание Прог (X_1 , г) в одной капсуле рассчитывали по формуле:

$$X_1 = \frac{I_1 \cdot m_0 \cdot b \cdot 1 \cdot 100 \cdot 10}{I_2 \cdot m_1 \cdot 100 \cdot 10 \cdot 1} = \frac{I_1 \cdot m_0 \cdot b}{I_2 \cdot m_1},$$

где b — средняя масса капсулы, в граммах.

б) раствор для инъекций «Прогестерон» (2.5 %)

1.0 мл раствора для инъекций «Прогестерон» (V) переносили в мерную колбу объемом 25.0 мл, прибавляли 20 мл этилового спирта и доводили до 25.0 мл тем же растворителем. Аликвоту полученного раствора 1.0 мл вносили в мерную колбу объемом 10.0 мл. Далее добавляли все реагенты, как при построении

нии градуировочного графика, и измеряли $I_{\text{люом}}$ исследуемого раствора ($I_{\text{пр}}$) при $\lambda_{\text{эмис}} = 545 \text{ нм}$ ($\lambda_{\text{возб}} = 317 \text{ нм}$).

Параллельно измеряли $I_{\text{люом}}$ раствора РСО Прог ($I_{\text{ст}}$).

Параллельно готовили раствор контрольной пробы, который содержал все компоненты, кроме Прог. Измеряли $I_{\text{люом}}$ контрольной пробы (I_0) в указанных выше условиях. При расчете интенсивностей люминесценции I_1 и I_2 учитывали $I_{\text{люом}}$ контрольной пробы по формулам: $I_1 = I_0/I_{\text{пр}}$ и $I_2 = I_0/I_{\text{ст}}$.

Содержание прогестерона (X_2 , мг) в 1 мл раствора для инъекций рассчитывали по формуле:

$$X_2 = \frac{I_1 \cdot m_0 \cdot 25 \cdot 10 \cdot 1}{I_2 \cdot V \cdot 1 \cdot 100 \cdot 10} = \frac{I_1 \cdot m_0 \cdot 0.25}{I_2 \cdot V}$$

Правильность методик количественного определения препарата «Утрожестан» проверена методом «введено-найдено» на модельных растворах препарата (табл. 1).

Таблица 1

Результаты определения прогестерона в модельных растворах методом «введено-найдено» (n=5, P=0.95)

Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	s_r
5.0	4.92 ± 0.29	0.048
50.0	51.8 ± 1.6	0.024
100.0	98.6 ± 2.6	0.021

Разработанные методики использованы для выполнения теста «Количественное определение» лекарственных форм: капсул «Утрожестан» и раствора для инъекций «Прогестерон». Результаты определения Прог в лекарственных препаратах представлены в табл. 2. Предлагаемые методики характеризуются удовлетворительными метрологическими характеристиками и простотой выполнения.

Таблица 2

Результаты определения прогестерона (X) в дозированных лекарственных формах (n = 5, P = 0.95)

Лекарственная форма	X	$X_{\text{ср}} \pm \Delta X$	S_r
КАПСУЛА «Утрожестан» («Besins Healthcare», Бельгия) — прогестерона 100 мг	100.3	100.6 ± 2.3	0.018
	98.5		
	103.2		
	99.4		
	101.5		
РАСТВОР ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ «Прогестерон» — 2.5 % (25 мг/мл) («Биофарма», Украина)	25.4	25.5 ± 0.9	0.029
	25.1		
	24.6		
	26.4		
	26.1		

Литература

1. *Машковский М. Д.* Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2006. — С. 587–588.
2. *Short R. V., Levett I.* The fluorimetric determination of progesterone in human plasma during pregnancy and the menstrual cycle // *J. Endocrinology.* — 1962. — Vol. 25. — P. 239–244.
3. *De Boever J., Kohen F., Vanderkerckhove D., Van Maele G.* Solidphase chemiluminescence immunoassay for progesterone in unextracted serum // *Clin. Chem.* — 1984. — Vol. 30, № 10. — P. 1637–1641.
4. *Katayama M., Nakane R., Matsuda Y., Kaneko S., Hara I., Sato H.* Determination of progesterone and 17-hydroxyprogesterone by high performance liquid chromatography after precolumn derivatization with 4,4-difluoro-5,7-dimethyl-4-bora-3a,4adiaza-s-indacene-3-propionohydrazide // *Analyst.* — 1998. — Vol. 123. — P. 2339–2342.
5. *Appelblad P., Ponten E., Jaegfeldt H., Bachstrom T., Irgum K.* Derivatization of Steroids with Dansylhydrazine Using Trifluoromethanesulfonic Acid as Catalyst // *Anal. Chem.* — 1997. — Vol. 69, № 23. — P. 4905–4911.
6. *Tai S., Xu B., Welch M. J.* Development and Evaluation of a Candidate Reference Measurement Procedure for the Determination of Progesterone in Human Serum Using Isotope-Dilution Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry // *Anal. Chem.* — 2006. — Vol. 78, № 18. — P. 6628–6633.
7. *Hu Sh., Yan Y., Zhao Z.* Determination of progesterone based on the enhancement effect of surfactants in linear sweep polarography // *Anal. Chim. Acta.* — 1991. — Vol. 248, № 1. — P. 103–108.
8. *Haynes S. P., Corcoran J. M., Eastman C. J., Doy F. A.* Radioimmunoassay of progesterone in unextracted serum // *Clin. Chem.* — 1980. — Vol. 26, № 11. — P. 1607–1609.
9. *Prakash B. S., Meyer H. H., Schallenberger E., van de Wiel D. F.* Development of a sensitive enzymeimmunoassay (EIA) for progesterone determination in unextracted bovine plasma using the second antibody technique // *J. Steroid. Biochem.* — 1987. — Vol. 28, № 6. — P. 623–627.
10. *Elliott Ch. T., Francis K. S., Shortt H. D., McCaughey W. J.* Determination of the concentrations of the steroids estradiol, progesterone and testosterone in bovine sera: comparison of commercial dissociation enhanced lanthanide fluorescence immunoassay kits with conventional radio and enzyme immunoassays // *Analyst.* — 1995. — Vol. 120, № 6. — P. 1827–1830.
11. *Dechaud H., Baor R., Claustrat F., Deeuzynges C., Mallein R.* New Approach to Competitive Lanthanide Immunoassay: Time-Resolved fluoroimmunoassay of Progesterone with Labeled Analyte // *Clin. Chem.* — 1988 — Vol. 34, № 3. — P. 501–504.
12. *Amin M., Harrington K., Wandruszka R.* Determination of steroids in urine by micellar HPLC with detection by sensitized terbium fluorescence // *Anal. Chem.* — 1993. — Vol. 65, № 17. — P. 2346–2351.
13. *Rieutord A., Prognon P., Brion F., Mahuzier G.* Liquid chromatographic determination using lanthanides as time-resolved luminescence probes for drugs and xenobiotics: advantages and limitation // *Analyst.* — 1997. — Vol. 122, № 5. — P. 59–66.
14. *Александрова Д. И., Егорова А. В., Скрипинец Ю. В., Антонович В. П., Украинец И. В.* Определение лекарственных препаратов — солей органических оснований — по влиянию их анионов на люминесценцию комплексов лантанидов // *Журн. аналит. химии.* — 2009. — Т. 64, № 7. — С. 724–732.
15. *Araujo A., Brito H., Malta O., Matosa J., Teotonio E., Storpirtis S., Izumi C.* Synthesis and photophysical study of highly luminescent coordination compounds of rare earth ions with thenoyltrifluoroacetate and AZT // *J. Inorg. Biochem.* — 2002. — Vol. 88. — P. 87–93.
16. *Marciniak B., Elbanowski M., Lis S.* Quenching of the triplet state of benzophenone by lanthanide 1,3-diketonate chelates in solutions // *Monatshefte Chem.* — 1988. — Vol. 119, № 6–7. — P. 669–676.
17. *Gok E., Ates S.* Fluorimetric determination of thyroxine hormone with Eu(III)-(pyridine-2,6-dicarboxylate) tris complex // *J. Fluorescence.* — 2003. — Vol. 13, № 3. — P. 221–225.
18. *Takahashi Y., Tanaka D. A., Matsunaga H., Suzuki T. M.* Switching of terbium(III)-sensitized

- luminescence by ligand exchange reaction: determination of catecholamines // Chem. Lett. — 2002. — Vol. 31, № 7. — P. 722–727.
19. Zhu X., Ge X., Jiang C. Spectrofluorimetric determination of dopamine using chlorosulfonylthienoyltrifluoroacetone–europium probe // J. Fluorescence. — 2007. — Vol. 17, № 6. — P. 655–661.
 20. Karim M., Lee S., Alam S., Jin S., Suh J. Determination of enoxacin using synergistic enhancement of fluorescent probe of Tb(III) composite nanoparticles // Book of abstracts 10th conference on methods and applications of fluorescence. — Salzburg. — 2007. — P. 226.
 21. Bebawy L. I., Kelani K. E., Fattah L. A. Fluorimetric determination of some antibiotics in raw material and dosage forms through ternary complex formation with terbium (Tb³⁺) // J. Pharm. Biomed. Anal. — 2003. — Vol. 32. — P. 1219–1225.
 22. Shaghghi M., Manzoori J. L., Jouyban A. Indirect spectrofluorimetric determination of omeprazole by its quenching effect on the fluorescence of Tb³⁺–1,10-phenanthroline complex in presence of bis (2-ethylhexyl) sulfosuccinate sodium in capsule formulations // DARU. — 2008. — Vol. 16, № 4. — P. 256–262.
 23. Attia M. S. Spectrofluorimetric assessment of Ramipril using optical sensor Samarium ion–doxycycline complex doped in sol–gel matrix // J. Pharm. Biomed. Anal. — 2010. — Vol. 51. — P. 7–11.
 24. Українець І. В., Ель Кааяль С. А., Горохова О. В., Сидоренко Л. В. Синтез та протитуберкульозна активність метилзаміщених піридил-2-амідів 1-R-2-оксо-4-гідроксигінолін-3-карбонових кислот // Фармацевтичний журнал. — 2004. — № 4. — С. 47–53.
 25. Паркер С. Фотолюмінесценція розчинів. М.: Мир, 1972. — 503 с.
 26. Lakowicz J. R. Principles of Fluorescence Spectroscopy. New York: Plenum, 1986. — 679 p.

**І. І. Леоненко, Д. І. Александрова, А. В. Егорова, В. П. Антонович,
І. В. Українець**

Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України,
вул. Люстдорфська дорога, 86, Одеса, 65080, Україна.

ВИЗНАЧЕННЯ ПРОГЕСТЕРОНУ З ВИКОРИСТАННЯМ ЕФЕКТУ ГАСІННЯ КОМПЛЕКСНОЇ СПОЛУКИ Tb(III)

Резюме

Вивчені спектрально-люмінесцентні характеристики комплексу Tb(III) з піколінвмісним амідом гідроксигінолінкарбонової кислоти (R). Встановлено, що в оптимальних умовах утворення комплексу Tb(III):R = 1:1 інтенсивність 4f-люмінесценції зменшується у присутності лікарського препарату прогестерон (Прог). Виявлений ефект гасіння використаний для люмінесцентного визначення Прог в дозованих лікарських формах з межею виявлення 0.17 мкг/мл. Градувальний графік в координатах Штерна-Фольмера лінійний в інтервалі концентрацій Прог 0.5–500.0 мкг/мл.

Ключові слова: сенсibiliзована люмінесценція, тербій, прогестерон.

**I. I. Leonenko, D. I. Aleksandrova, A. V. Yegorova, V. P. Antonovich,
I. V. Ukrainets**

A. V. Bogatsky Physico-Chemical Institute
of the National Academy of Sciences of Ukraine,
Lustdorfskaya doroga, 86, Odessa, 65080, Ukraine

**DETERMINATION OF PROGESTERONE WITH THE USE OF
QUENCHING EFFECT OF Tb(III)COMPLEX**

Summary

Spectral-luminescent characteristics of Tb(III) complex with picolincontaining amide hydroxoquinolinecarboxylic acid (R) have been investigated. It has been established that intensity of 4f-luminescence of complex Tb(III):R = 1:1 in optimum conditions significant decreases in presence of medicinal preparation progesterone (Prog). The quenching effect has been used for luminescent determination of Prog in forms with the limit of detection 0.17 µg/ml. The Stern-Folmer calibration curve is linear in the interval of concentrations of Prog 0.5–500.0 µg/ml.

Key words: sensibilized luminescence, terbium, progesterone.