

УДК 543.42: 543.635

А. Паустовська, асп., В. Сушко, студ., Г. Бойко, студ.,  
Л. Зінько, канд. хім. наук, О. Запорожець, д-р хім. наук,  
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ**МЕТОДИ МОЛЕКУЛЯРНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ОКСАЛАТІВ І ТАРТРАТІВ**

*Систематизовані дані літератури щодо використання методів молекулярної спектроскопії для кількісного визначення оксалатів і тартратів. Показана перспективність використання таких методів для визначення згаданих аніонів у крові та сечі, а також для контролю якості лікарських препаратів і харчових продуктів, до складу яких входять ці сполуки.*

*Ключові слова: спектрофотометрія, люмінесценція, оксалат, тартрат.*

**Вступ.** Оксалатна (щавлева) і тартратна (винна) кислоти відносяться до класу оксикарбонових кислот та відіграють важливу роль у біохімічних перетвореннях в живих організмах та у формуванні сполучної тканини. Так, оксалатна кислота в організмі людини утворюється як кінцевий продукт обміну серину, гліцину та гідрокси-проліну, а ззовні надходить з продуктами харчування та фармацевтичними препаратами. При концентрації вільного оксалату понад 350 мкмоль/л, оксалатна кислота проявляє мітохондріальні та нейротоксичні властивості, пошкоджуючи епітеліальну тканину нирок [1]. Також понаднормовий вміст оксалатів у крові та сечі приглушує активність дегідрогенази та карбоксилази [2]. Це призводить до розвитку широко розповсюджених захворювань, зокрема гіпероксалуриї, стеатореї, нефролітазу та утворення ниркових каменів кальцій оксалату. Діагностика цих хвороб передбачає контроль вмісту оксалатів у біорідинах.

Тартрати широко застосовуються в харчовій промисловості як харчові добавки (регулятори кислотності, згущувачі, емульгатори і консерванти) при виробництві деяких консервів, соків, столових вод та кондитерських виробів. В невеликих кількостях солі винної кислоти не є шкідливими для організму людини, проте перевищення допустимої норми (більше 30 мг на кілограм маси тіла) може нанести значну шкоду здоров'ю. Тартрати, що містяться у сечі, є потенційними інгібіторами утворення каменів у нирках [3, 4], оскільки утворюють відносно стійкі комплекси з кальцієм [5]. А ті, що містяться у крові, виступають інгібіторами кислої фосфатази [6], поява якої свідчить про утворення ракових пухлини в організмі. Визначення тартратів у біорідинах використовується задля діагностики ряду хвороб.

У фармацевтичній промисловості згадані аніони використовують як протиіони до органічного катіона, що є діючою речовиною. Практично весь введений з ліками тартрат (оксалат), на відміну від діючої речовини, виводиться з організму із сечею у незмінному вигляді, що дає можливість за вмістом аніону в біологічних рідинах досліджувати метаболізм лікарських засобів в організмі. Активний розвиток аналітичної хімії цих аніонів обумовлений зростанням інтересу щодо можливості контролю вмісту оксалату і тартрату у продуктах харчування, крові та сечі.

Метрологічні характеристики відомих методів молекулярно-спектроскопічного визначення оксалату і тартрату представлено у таблиці 1 і додатково охарактеризовано у тексті.

**Молекулярно-спектроскопічні методи визначення оксалату.** Оксалати утворюють з Zr(IV),  $UO_2^{2+}$ , та Fe(III) стійкі комплексні сполуки [5]. Утворення таких комплексів покладено в основу більшості непрямих спектрофотометричних (СФ) і люмінесцентних (ЛМ) методик визначення оксалату, в основі яких – руйнування у присутності аналіту забарвлених (люмінесцюючих) комплексів металів з органічними реагентами різних класів.

**Спектрофотометрія.** Руйнування оксалатом комплексу Zr(IV) з хлораніловою кислотою (рН 2) покладено в основу непрямого СФ його визначення у біологіч-

них і водних об'єктах (МВ=0,3 мкМ) [7]. Визначенню не заважають D-глюкоза та багатоатомні спирти.

Як індикаторну систему для непрямого СФ визначення слідових кількостей оксалату запропоновано комплекс Zr(IV) з 3-(2,6-дибromo-4сульфофенил-азо)-4,5-дигідроксинафтаген-2,7-дисульфатом (ДБС-А) [8]. Конкурентну реакцію проводять у 9–17 мМ НСІ. Аналітичний відгук досягає максимального значення за 25 хв після додавання оксалату та залишається стабільним впродовж 12 год при 20°C. Методику апробовано при визначенні оксалатів у помідорах.

Руйнування комплексу Zr(IV) з кверцетином покладено в основу простої, швидкої і надійної методики непрямого СФ визначення оксалату, що є придатною для аналізу водних розчинів [9]. Крім цього, авторами запропоновано спосіб прямого СФ визначення оксалату за зростанням світлопоглинання кверцетину, що вивільняється при проходженні аналітичної реакції.

Знебарвлення комплексу Fe(III) з індол-2-карбоксилатом оксалатом (у ізоаміловому спирті) покладено в основу досить чутливої (МВ=2 мкМ) методики непрямого екстракційно-СФ визначення останнього [10].

Руйнування комплексу  $UO_2^{2+}$  з 4-(2-піридилазо)-резорцином (рН=4,8) покладено в основу методики непрямого СФ визначення оксалату [11]. Методика вигідно відрізняється відносно високою чутливістю (МВ =6 мкМ) та відсутністю кропіткої пробопідготовки, і запропонована для аналізу природних вод.

Цікавою є СФ методика визначення оксалату після фотохімічного руйнування його комплексу з Fe(III) [12]. В результаті фотохімічного руйнування утворюється Fe(II). Утворення забарвленого комплексу Fe(II) з феррозином використовують для СФ детектування оксалату (МВ=3 мкМ) у проточно-інжекційному варіанті. Методику апробовано при визначенні оксалатів у сечі з попереднім осадженням кальцію хлоридом.

Для визначення оксалату запропоновано також каталітичний модельний компонент Mn(біс-(2-піридилметил)-аміно-пропіонова кислота)( $H_2O$ )<sub>2</sub>(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (MnПАП( $H_2O$ )<sub>2</sub>(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>) [13]. Оксалат спочатку розкладають оксалатоксидазою з утворенням  $H_2O_2$ , який окиснює модельний компонент з утворенням забарвленої сполуки. Аналітичний відгук реєструють фотометрично. Така техніка виконання забезпечує специфічність методики. Перевагами такого підходу над традиційними методами є низька собівартість аналізу, простота виконання та широкий лінійний діапазон (0,002–20 мкМ) визначуваних концентрацій. До недоліків методики слід віднести довготривалу пробопідготовку та інкубування розчинів при 40-50°C. Методику вдало використано при визначенні оксалату у сечі.

**Твердофазна-спектрофотометрія (ТСФ).** Конкурентні реакції покладено в основу розробки ТСФ методик. Так, реакцію взаємодії Zr(IV) з оксалатом у розчині та іммобілізованим на силікагелі Метилтимоловим синім (МТС-СГ) запропоновано для ТСФ і візуального тест-визначення оксалату [14]. Поглинання твердофазного реагенту зменшується пропорційно збільшенню концентрації оксалату у розчині. Перевагами розроблених методик є експресність та можливість визначення

аналіту поза межами лабораторії. Також розроблені методики характеризуються достатньою для аналізу біологічних рідин вибірковістю.

**Люмінесценція.** Використання ЛМ способу детектування аналітичного відгуку покладено в основу більш чутливих методик визначення оксалату, зокрема й з використанням конкурентних реакцій. Так, руйнування оксалатом ЛМ комплексу Zr(IV) з 3-гідроксифлавоном у сірчано-кислотному середовищі покладено в основу непрямого ЛМ визначення аналіту [15]. Порівняно з аналогічними СФ, запропонована методика характеризується вищими чутливістю ( $MV=0,04$  мкМ) та вибірковістю. Заважаючий вплив спостерігається з боку незначної кількості неорганічних аніонів.

Здатність оксалату вбудовуватися у координаційну сферу центрального іону з утворенням різнолігандних комплексів металів за участі органічних реагентів, що характеризуються кращими спектральними властивостями порівняно з одноріднолігандними, використовують для розробки прямих ЛМ методик визначення оксалату. Утворення різнолігандного комплексу Zr(IV) з оксалатом і алізариним червоним С (АЧС) у слабко-кислотному середовищі у присутності цетилпіридиній хлориду (ЦПХ) покладено в основу визначення оксалату у сечі та шпинатному листі [16]. Аналітичний відгук є максимальним у випадку використання ацетатного буферу з рН 5,0 та наступного порядку змішування реагентів: оксалат – Zr(IV) – буфер – ЦПХ – АЧС.

Різнолігандний люмінесцюючий комплекс утворюється також при взаємодії  $Eu^{3+}$  з теноїлтрифтороацетатом (ТТА) у присутності оксалату при рН 6,5 у буферному розчині гексаметилентетраамін – HCl. Автори [17] використали цю аналітичну форму при розробці прямої ЛМ методики визначення оксалату ( $MV=0,6$  мкМ). Перевагами даної методики є простота у виконанні та висока вибірковість. Методику апробовано при визначенні оксалату у синтетичних зразках.

**Кінетична спектрофотометрія (КСФ).** Відомо, що оксалати можуть виступати каталізаторами окисно-відновних реакцій. Цю властивість було використано для розробки низки чутливих КСФ методик визначення оксалату.

Так, наприклад, каталітичний вплив оксалату на реакцію окиснення Mn(II) до  $MnO_4^-$  періодатом калію покладено в основу КСФ методики визначення оксалату. [18]. Для детектування аналітичного відгуку (поглинання  $MnO_4^-$  при  $\lambda=525$  нм) використано метод фіксованого часу та вимірювання тривалості індукційного періоду. Реакцію проводять при  $35^\circ C$  у присутності ортофосфатної кислоти (0,015 М) і ацетату натрію (0,014 М). Для маскуванню надлишку періодату до реакційної суміші вводять натрію молібдат. Методику було апробовано при визначенні оксалату в шпинаті і сечі.

Здатність оксалату активувати каталітичні властивості Fe(II) у реакції окиснення йодиду броматом покладено в основу іншої чутливої методики визначення оксалату ( $MV=0,7$  мкМ) [19]. Як аналітичний відгук використовували світлопоглинання трийодиду ( $\lambda_{max}=352$  нм). Методику застосовано для визначення оксалату у біологічних об'єктах.

Також оксалати здатні каталізувати реакції окиснення органічних реагентів дихроматом. Таким чином можливе чутливе визначення оксалату за зменшенням аналітичного відгуку у спектрі поглинання органічних реагентів.

Так, в основу КСФ методики визначення оксалату покладено реакцію окиснення Кристалічного фіолетового (КФ) калію дихроматом, що каталізується оксалатом, у сульфатнокислотному середовищі [20]. До переваг методики слід віднести високу чутливість ( $MV=0,5$  мкМ) та можливість проведення визначення при кімнатній температурі. Методику апробовано при визначенні слідових кількостей оксалату у харчових продуктах та водах.

Дещо більш чутливою є КСФ методика визначення оксалату, в основу якої покладено каталітичний ефект оксалату на реакцію окиснення Родаміну В калію дихроматом у 0,10 М сульфатній кислоті при  $50^\circ C$  [21]. Межа виявлення становить 0,27 мкМ. Розроблену методику успішно апробовано при аналізі біологічних об'єктів.

**Кінетична люмінесценція (КЛМ).** Також каталітичний ефект оксалату на реакцію окиснення Родаміну В калію дихроматом покладено в основу потоково-інжекційного КЛМ визначення оксалату [22]. Як аналітичний відгук використовують зменшення сигналу у спектрі люмінесценції органічного реагенту. Порівняно з СФ детектуванням [21], ЛМ – дозволяє дещо розширити діапазон визначуваних концентрацій (20–978 мкМ), однак, чутливість при цьому зменшується ( $MV=11$  мкМ). Методику апробовано при аналізі продуктів харчування та сечі.

**Хемілюмінесценція (ХЛ).** Авторами [23] запропоновано використовувати реакцію окиснення Метилового червоного (МЧ) дихроматом, що каталізується оксалатом, для проточного ХЛ визначення останнього ( $MV=0,44$  мкМ). Утворений при взаємодії дихромату з МЧ Cr(III) каталізує реакцію окиснення люмінолу перекисом водню. Інтенсивність ХЛ зростає пропорційно збільшенню вмісту оксалату у розчині. Методику застосовано для визначення оксалатів в овочах.

Аналогічно до [12] автори [24] пропонують ХЛ визначення оксалату після фотохімічного руйнування його комплексу з Fe(III). В основі методики – ХЛ окиснення люмінолу, що каталізується утвореним в результаті фотохімічної реакції Fe(II). Проточно-інжекційний ХЛ варіант методики визначення оксалату порівняно з СФ [12] характеризується ширшим робочим діапазоном концентрацій (0,09–90 мМ), однак дещо нижчою чутливістю ( $MV=10$  мкМ). Запропоновано проточно-інжекційну систему з продуктивністю до 30 зразків за годину. Можливості методики продемонстровано при аналізі сечі.

Авторами [25] було створено ХЛ біосенсор для кількісного визначення оксалату у поєднанні з проточно-інжекційною системою. Скліну міні-колонку наповнюють біологічним матеріалом на основі шпинату, що містить оксалатоксидазу, а компоненти ХЛ реакції (люмінол та Co(II)) іммобілізують на приєднаній послідовно іонообмінній колонці. В скляній міні-колонці протікає каталітична реакція за участю оксалатоксидази при пропусканні крізь неї розчину, що містить оксалат. Утворений продукт –  $H_2O_2$  в іонообмінній колонці вступає у реакцію з люмінолом, яку каталізує Co(II). Як аналітичний відгук використовують генерований ХЛ сигнал. Час аналізу становить 2 хв. Аналітичний відгук залишається стабільним впродовж 300 вимірювань.

**Молекулярно-спектроскопічні методи визначення тартрату.** *Спектрофотометрія.* Автори [12] пропонують визначати тартрат за аналогічним до оксалату принципом. А саме після фотохімічного руйнування комплексу Fe(III) з тартратом. До реакційної суміші вводять феррозин, який утворює забарвлений комплекс з утвореним в результаті фотохімічної реакції Fe(II).  $MV$  при СФ реєстрації сигналу із застосуванням потоково-інжекційної системи становить 0,3 мкМ. Продуктивність – до 40 зразків за годину. Методику апробовано при визначенні тартратів у фармпрепараті.

Тартрати здатні утворювати з органічними реагентами забарвлені сполуки. В основу методики прямого СФ визначення тартрату покладено реакцію утворення забарвленої сполуки при взаємодії аналіту з  $\beta$ -нафтолом у концентрованій сульфатній кислоті (90%) [26]. У спектрах поглинання забарвленого продукту спостерігається два максимуми, інтенсивність та положення яких залежить від концентрації тартрату та  $\beta$ -нафтолу. Визначенню тартрату за даною методикою заважають нітрати, оскільки у присутності сульфатної

кислоти вони викликають обвуглення реагенту, та ацетон, оскільки він взаємодіє з тарtratoм. Дана методика є досить чутливою (діапазон визначуваних концентрацій 0,02-0,20 мкМ), проте не є вибірковою. Визначенню тарtratoу заважають бензойна, лимонна, щавелева кислоти, Cu(II) та Fe(III)), що також утворюють з  $\beta$ -нафтолом забарвлені сполуки.

Проточно-інжекційне СФ визначення тарtratoу базується на утворенні забарвленого продукту при взаємодії аналіту з ванадатом натрію [27]. Дана методика характеризується експресністю, малими витратами реагентів та мінімальним втручанням оператора. До недоліків слід віднести низьку чутливість (20 мМ). Розроблену методику запропоновано для визначення винної кислоти у винах.

В основу методики визначення тарtratoу з використанням методу диференційної СФ покладено реакцію між тарtratoм та хлораніловою кислотою [28]. Дана методика є недостатньо чутливою для аналізу біорідин чи фармацевтичних препаратів (МВ=1,4 мМ), але придатна для аналізу харчових продуктів. Методику успішно апробовано при визначенні тарtratoу у розпушувачі тіста.

В основі СФ методики визначення тарtratoу лежить реакція окиснення аналіту періодатом. Як аналітичний відгук використовують оптичну густину розчину в максимумі поглинання йодату, що є продуктом аналітичної реакції [29]. Надлишок періодату маскують додаванням натрію молібдату при рН 2. Розроблена методика дає можливість визначити мікрокількості тарtratoу (0,03–0,50 мкМ) у присутності значного надлишку цитратів, оскільки для солей лимонної кислоти дана реакція відбувається за інших оптимальних умов. Аналітичний відгук стабілізується за 1 годину при незначному нагріванні реакційної суміші (до 50°C).

**Хемілюмінесценція.** Реакцію окиснення тарtratoу періодатом покладено також в основу методики ХЛ ви-

значення тарtratoу у варіанті зупиненого струменю [30]. Однак, реакцію за цією методикою рекомендують проводити при 25°C та впродовж 30 хв. Залишок періодату вступає у ХЛ реакцію з люмінолом, яка інгібується у присутності комплексу Mn(II) з триетаноламіном. Дана методика характеризується досить широким діапазоном визначуваних концентрацій (1,0–50 мкМ), але поступається СФ методиці [29] за чутливістю (МВ=0,12 мкМ). Методику запропоновано застосовувати при аналізі фармпрепаратів.

В основу іншої ХЛ методики визначення тарtratoу покладено реакцію між тарtratoм та Ce(IV) у присутності комплексу рутенію з біпіридилем Ru(bipy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> [31]. Продукт окиснення тарtratoу з Ce(IV) взаємодіє з Ru(bipy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>, що супроводжується появою ХЛ. МВ становить 0,27 мкМ. Діапазон визначуваних концентрацій тарtratoу – 1,3–370 мкМ. Методику вдало застосовано для визначення тарtratoу у сироватці крові людини.

Існують ЛМ та ХЛ методики визначення не безпосередньо тарtratoу, а фармпрепарату, до складу якого входить зазначений аніон, зокрема метопрололу тарtratoу [32] та платифіліну тарtratoу [33].

Сенсибілізація у присутності метопрололу тарtratoу ХЛ випромінювання, виникає у реакції сульфату з Ce(IV) у кислому середовищі, що покладено в основу розробки проточно-інжекційної ХЛ методики визначення препарату у таблетках та сечі [32].

**Люмінесценція.** Методика чутливого визначення платифіліну тарtratoу базується на застосуванні сенсибілізації люмінесценції комплексу Eu(III) з похідними фторвмісних амідів гідроксигінолінкарбонкової кислоти [33]. Платифіліну тарtratoу викликає сенсибілізацію. Методика дає можливість визначити платифіліну тарtratoу без відділення його від біоматриці.

Таблиця 1

Порівняння молекулярно-спектроскопічних методик визначення оксалату і тарtratoу

Метод визначення	Індикаторна система	Діапазон визначуваних концентрацій, мкМ	МВ, мкМ	Об'єкт аналізу	Література
Визначення оксалату					
СФ	Zr(IV), хлоранілова кислота	1–80	0,3	вода	[7]
	Zr(IV), ДБС-А	9,0–50 · 10 <sup>2</sup>	8	харчові продукти	[8]
	Zr(IV), кверцетин	0–5	2	вода	[9]
	UO <sub>2</sub> <sup>2+</sup> , ПАР	0–33	6	розчин оксалату	[10]
	Fe(II), індол-2-карбоксилат	10–67	2	розчин оксалату	[11]
	Fe(II), феррозин	5,0–100	3	сеча	[12]
ТСФ	MnПАП(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> (ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2,0–20 · 10 <sup>3</sup>	2	сеча	[13]
	Zr(IV), МТС-СГ	22–100	14	біорідини	[14]
ЛМ	Zr(IV), 3-гідроксифлавоп	0,04–0,9	0,04	вода	[15]
	Zr(IV), АЧС	93–1100	50	біорідини, овочі	[16]
	Eu(III), ТТА	1–8	0,6	синтетичні зразки	[17]
КСФ	Mn(II), KIO <sub>4</sub>	0,6–19	0,3	сеча	[18]
	Γ <sup>-</sup> , BrO <sub>4</sub> <sup>-</sup> , Fe(II)	0,9–63	0,7	біорідини	[19]
	КФ, K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	2,5–70	0,5	харчові продукти	[20]
	Родамін В, K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	4,0–67	0,27	біорідини	[21]
КЛМ	Родамін В, K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	20–978	11	харчові продукти	[22]
ХЛ	МЧ, K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> , люмінол	2,7–90	0,44	овочі	[23]
	люмінол, Fe(II)	90–90 · 10 <sup>3</sup>	10	сеча	[24]
	люмінол, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	0,6–100	0,2	розчин оксалату	[25]
Визначення тарtratoу					
СФ	Fe(II), феррозин	1–20	0,3	фармпрепарати	[12]
	$\beta$ -нафтол	0,02–0,20	Не вказано	робочі розчини	[26]
	Na <sub>2</sub> VO <sub>4</sub>	(34–66) · 10 <sup>3</sup>	2,0 · 10 <sup>4</sup>	вина	[27]
	Хлоранілова кислота	Не вказано	1,4 · 10 <sup>3</sup>	харчові продукти	[28]
	IO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	0,03–0,50	Не вказано	суміш тарtratoу і цитрату	[29]
ХЛ	IO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	1,0–50	0,12	фармпрепарати	[30]
	Ce(IV), Ru(bipy) <sub>3</sub> <sup>2+</sup>	1,3–370	0,27	сироватка крові	[31]
	Ce(IV), SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	0,015–7,3	0,73	метопрололу тарtratoу, сеча	[32]
ЛМ	Eu(III), похідне фторвмісного амідів гідроксигінолінкарбонкової кислоти	4–60	1,74	платифіліну тарtratoу	[33]

Наявність значної кількості даних літератури, що присвячені розробкам молекулярно-спектроскопічних методик визначення оксалату і тартрату, доводить актуальність проблеми детектування вмісту аналітів у зразках різного типу. Відомі СФ методи є класичними для визначення аніонів, однак їх чутливості не завжди достатньо для аналізу біооб'єктів. Високою чутливістю характеризуються кінетичні методи визначення оксалатів і тартратів [18–25, 30–32]. Однак, їх застосування обмежено через недостатню вибірковість і складність пробопідготовки.

Існує незначна кількість чутливих методів люмінесцентного визначення аніонів [16, 17, 18, 33]. Вони базуються на сенсibiliзації люмінесценції металів з органічними реагентами у присутності визначеного аніону. Такі методики вигідно відрізняються простотою процедури аналізу при доступності та відносно невисокої вартості обладнання. Розробка нових підходів до люмінесцентного визначення оксалатів і тартратів є актуальним завданням сучасної аналітичної хімії аніонів.

#### Список використаних джерел

- Scheid C. Oxalate toxicity in LLC-PK1 cells, a line of renal epithelial cells / C. Scheid, H. Koul, W. A. Hill // J. Urol. – 1996. – Vol. 155. – P. 1112–1116.
- Hodgkinson A. Oxalic Acid in Biology and Medicine / A. Hodgkinson. – New York: Academic Press, 1977. – 421 p.
- Sur B. K. Future of tamarind and tartrate in preventing recurrence of renal calculi / Sur B. K., H. N. Pandey, S. Deshpande, R. Pahwa, E. K. Singh, Tarachandra // Urolithiasis: clinical and basic research. – New York: Plenum Press, 1981. – P. 333–336.
- Halison P. C. The additive effects of magnesium and tartrate upon inhibition of calcium oxalate crystal formation in whole urine / P. C. Halison, G. A. Rose // Urolithiasis and related clinical research. – New York: Plenum Press, 1985. – P. 847–850.
- Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии / Ю.Ю. Лурье. – М.: Химия, 1971. – 453 с.
- LaCount M. W. Structural origins of L(+)-tartrate inhibition of human prostatic acid phosphatase / M. W. LaCount, G. Handy, L. Lebioda // J. Biol. Chem. – 1998. – Vol. 273, № 46. – P. 30406–30409.
- Dona A-M. Analytical applications of oxocarbons. Part 3. Specific spectrophotometric determination of oxalic acid by dissociation of the zirconium(IV)-chloranilate complex / A-M. Dona, J-F. Verchère // Analyst. – 1991. – Vol. 116, № 5. – P. 533–536.
- Zhai Q-Z. Determination of trace amount of oxalic acid with zirconium (IV)-(DBS-arsenazo) by spectrophotometry / Q-Z. Zhai // Spectrochim. Acta, Part A. – 2008, № 71. – P. 332–335.
- Allan A.L. Spectrophotometric determination of oxalate in aqueous solution / A.L. Allan, B.S. Fernández Band, E. Rubio // Microchem. J. – 1986. – Vol. 34, № 1. – P. 51–55.
- Román Ceba M. Spectrophotometric determination of anions by reextraction through the exchange of ligands: The determination of traces of oxalate using ferric indol-2-carboxylate in isoamyl alcohol / M. Román Ceba, J.A. Muñoz Leyva, F. Vinagre Jara // Microchem. J. – 1980. – Vol. 25, № 4. – P. 443–457.
- Neas R. E. Indirect spectrophotometric determination of oxalate using uranium and 4-(2-pyridylazo)resorcinol / E. R. Neas, J. C. Guyon // Analyt. Chem. – 1972. – Vol. 44, № 4. – P. 799–805.
- Pérez-Ruiz T. Flow-Injection Spectrophotometric Determination of Oxalate, Citrate and Tartrate Based on Photochemical Reactions / T. Pérez-Ruiz, C. M. Lozano, V. Tomás // Analyst. Let. – 1998. – Vol. 31, № 8. – P. 1413–1427.
- Zuo G. A novel urinary oxalate determination method via a catalase model compound with oxalate oxidase / G. Zuo, X. Jiang, H. Liub, J. Zhang // Analyst. Methods. – 2010, № 3. – P. 254–258.

14. Zaporozhets O. A. Determination of fluoride and oxalate using the indicator reaction of Zr(IV) with methylthymol blue adsorbed on silica gel / O. A. Zaporozhets, L. Ye. Tsyukalo // Analyt. Chim. Acta. – 2007. – Vol. 597, № 1. – P. 171–177.

15. Britton D. A. Fluorimetric determination of oxalate ion / D. A. Britton, J. C. Guyon // Analyt. Chim. Acta. – 1969. – Vol. 44, № 2. – P. 397–401.

16. Munoz J. A. Effect of cationic micelles on the formation of the complex oxalate-Alizarin Red S-Zr(IV). Application to the sensitive fluorescence determination of oxalate ion / J. A. Munoz, A. M. G. Campana, F. A. Barrero // Talanta. – 1998. – Vol. 47. – P. 387–399.

17. Cha K. W. Spectrofluorimetric determination of oxalate based on its ternary complex between  $\text{Eu}^{3+}$  and thenoyltrifluoroacetone / K. W. Cha, H. Z. Huang, H. C. Choi // Bull. Korean Chem. Soc. – 2002. – Vol. 23, № 10. – P. 1456–1458.

18. Hassouna M.E.M. Determination of oxalate based on its enhancing effect on the oxidation of Mn(II) by periodate / M.E.M. Hassouna, S.A.A. Elsucary // Talanta. – 2002. – Vol. 56, № 1. – P. 193.

19. Chamjangali M. A. Kinetic spectrophotometric method for the determination of trace amounts of oxalate by an activation effect / M. A. Chamjangali, V. Keley, G. Bagherian // Analyst. Sci. – 2006, № 2. – P. 333–336.

20. Chamjangali M. A. Determination of trace amounts of oxalate in vegetable and water samples using a new kinetic-catalytic reaction system / M. A. Chamjangali, L. Sharif-Razavian, M. Yousefi, A. H. Amin // Spectrochim. Acta, Part A. – 2009, № 73. – P. 112–116.

21. Zhai Q-Z. Catalytic kinetic spectrophotometry for the determination of trace amount of oxalic acid in biological samples with oxalic acid-rhodamine B-potassium dichromate system / Q-Z. Zhai, X-X. Zhang, Q-Z. Liu // Spectrochim. Acta, Part A. – 2006, № 65. – P. 1–4.

22. Pérez-Ruiz T. Flow injection spectrofluorimetric determination of oxalate based on its enhancing effect on the oxidation of Rhodamine B by dichromate / T. Pérez-Ruiz, C. Martínez-Lozano, V. Tomás, R. Casajús // Analyst. – 1995. – Vol. 120, № 8. – P. 2111–2114.

23. Pérez-Ruiz T. Chemiluminescent determination of oxalate based on its enhancing effect on the oxidation of methyl red by dichromate / T. Pérez-Ruiz, C. Martínez-Lozano, V. Tomás, J. Fenoll // Analyt. Chim. Acta. – 2005. – Vol. 552, № 1-2. – P. 147–151.

24. Pérez-Ruiz T. Flow-injection determination of oxalate by a photoinduced chemiluminescent reaction / T. Pérez-Ruiz, C. Martínez-Lozano, A. Sanz, O. Val // Analyt. Chim. Acta. – 1993. – Vol. 284, № 1. – P. 173–179.

25. Qin W. Plant tissue-based chemiluminescence flow biosensor for oxalate / W. Qin, Z. Zhang, Y. Peng, B. Li // Anal. Commun. – 1999. – Vol. 36. – P. 337–339.

26. Chistian G. D. Spectrophotometric determination of tartaric acid with  $\beta$ -naphthol / G. D. Chistian // Talanta. – 1969. – Vol. 16. – P. 255–261.

27. Silva H. A. D. F. O. Optimization of flow-injection analysis system for tartaric acid determination in wines / H. A. D. F. O. Silva, L. M. B. C. Alvares-Riberio // Talanta. – 2002. – Vol. 58. – P. 1311–1318.

28. Arnold R. Differential spectrophotometric determination of tartrate with chloranilic acid / R. Arnold, Jr. Johnson // Analyt. Chim. Acta. – 1965. – Vol. 33. – P. 397–402.

29. Nisli G. Spectrophotometric determination of tartrate in presence of citrate / G. Nisli, A. Townsend // Talanta. – 1968. – Vol. 15. – P. 1480–1483.

30. Gaikwad A. Sensitive determination of periodate and tartaric acid by stopped-flow chemiluminescence spectrometry / A. Gaikwad, M. Silva, D. Pérez-Bendito // Analyst. – 1994. – Vol. 119. – P. 1819–1824.

31. Li X. Development of chemiluminescence method for the simultaneous determination of pyruvic and tartaric acids in human serum based upon their reaction with cerium (IV) in the presence of ruteniumtrispyridine / X. Li, L. Ling, Z. He, G. Song, S. Lu, L. Yuan, Y. Zeng // Microchem. J. – 2000. – Vol. 64. – P. 9–13.

32. Liu H. Fang. Determination of metoprolol tartrate in tablets and human urine using flow-injection chemiluminescence method / H. Liu, J. Ren, Y. Hao, H. Ding, P. He, Yu. Fang // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2006. – Vol. 42. – P. 384–388.

33. Александрова Д. И. Определение лекарственных препаратов – солей органических оснований – по влиянию их анионов на люминесценцию комплексов лантанидов / Д. И. Александрова, А. В. Егорова, Ю. В. Скрипинец, В. П. Антонович, И. В. Украинец // Журн. аналит. химии. – 2009. – Т. 64, № 7. – С. 724–372.

Надійшла до редколегії 07.07.14

А. Паустовская, аспирант, В. Сушко, студ., Г. Бойко, студ., Л. Зинько, канд. хим. наук, О. Запорожец, д-р хим. наук, КНУ імені Тараса Шевченка, Київ

## МЕТОДИ МОЛЕКУЛЯРНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕННЯ ОКСАЛАТОВ І ТАРТРАТОВ

*Систематизовані дані літератури об використанні методів молекулярної спектроскопії для кількісного визначення оксалатів і тартратів. Показана перспективність використання таких методів для визначення вмісту оксалатів у крові і мочі, а також для контролю якості лікарських препаратів і харчових продуктів, в складі яких входять оксалати і тартрати.*

*Ключові слова: спектроскопія, люмінесценція, оксалат, тартрат.*

A. Paustovska, PhD student, V. Sushko, student, G. Boiko, student,  
L. Zinko, PhD, O. Zaporozhets, Professor,  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv

## THE METHODS OF MOLECULAR SPECTROSCOPY FOR OXALATE AND TARTRATE DETERMINATION

*Reviews about molecular spectroscopy methods of oxalate and tartrate determination have been systematized. The special attention have been paid to the spectrophotometry techniques, which based on both competitive and redox reactions, and luminescence, including chemiluminescence. Spectrophotometric techniques earlier proposed for tartrate and oxalate determination were shown to be of low sensitivity and unsuitability for body fluids analysis. Kinetic techniques were found to be more sensitive, but the procedures are time-consuming. Luminescent techniques for the anions determination are as sensitive as the kinetic ones, and characterized with sufficient selectivity. Spectroscopic methods have been shown to be perspective for the anions above determination in blood and urine in order to diagnosis diseases and to carry out therapeutic drug monitoring. Moreover, the methods proposed were proved to be useful for quality control testing of drugs and food products, containing oxalate and tartrate.*

*Keywords: spectrophotometry, luminescence, oxalate, tartrate.*

УДК 543.645.9+543.062

Ю. Цирульнева, інж.,  
О. Запорожець, д-р хім. наук  
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ

## СУЧАСНІ МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ДІУРЕТИКІВ У ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ТА БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТАХ

*Проведено аналіз даних літератури щодо сучасних методів визначення і виявлення діуретиків у фармацевтичних препаратах та біологічних рідинах. Показано, що до найбільш розповсюджених відносяться хроматографічні та спектроскопічні, зокрема люмінесцентні, методи. Складність біологічних матриць та низький вміст діуретиків передбачає проведення стадії попереднього концентрування аналітів та їх відокремлення від компонентів матриці.*

*Ключові слова: хроматографічні методи, спектроскопічні методи, діуретики.*

**Вступ.** Діуретики широко використовуються у клінічній практиці для лікування гіпертензії та різних видів набряків [1], а також для корекції кислотного-лужного балансу та для лікування інтоксикацій та деяких уражень [2]. Ці речовини зазвичай збільшують об'єм сечі, що виробляється, та посилюють виведення електролітів та води разом із сечею як результат порушення транспорту іонів у нирках.

Спортсмени приймають діуретики з декількох причин: для зменшення маси тіла з метою кваліфікації у меншій ваговій категорії, для зниження концентрації інших заборонених речовин з метою уникнення допінг-позитивних результатів та для подолання утримування рідини, спричиненого використанням анаболічних стероїдів [3]. Наведені причини застосування діуретиків у спорті пов'язані з їхньою здатністю збільшувати об'єм сечі, що виділяється організмом, або збільшувати рН сечі [4] (наприклад, інгібіторами карбоангідрази), що призводить до зменшення екскреції лужних допінгових агентів, таких як мемфентермін, фентермін та амфетамін [5]. Концентрація цих речовин стає меншою за межу виявлення в рутинному аналізі. Більш того, довший період напівжиття в організмі викликає збільшення метаболізму деяких сполук. Високоєфективні діуретики типу фуросеміду та буметаніду не проявляють таких властивостей. Встановлено, що хоча деякі діуретики піддаються високому ступеню метаболізму, більшість з них виводяться із сечею у незмінному вигляді. Наприклад, не зазнають метаболізму 99% ацетазоламіда і 4-12% триамтерена [6].

Застосування діуретиків спортсменами заборонено згідно із Всесвітньою Анти-Допінговою Агенцією [7]. Регламентована Межа Детектування діуретиків складає 250 нг/мл [8]. Надмірне неконтрольоване прийняття діуретиків може призвести до серйозних проблем в організмі [9].

Діуретики належать до різних класів хімічних сполук. Вони значно різняться між собою як за молекулярною структурою, так і за фізико-хімічними властивостями. До основних діуретиків належать калійзберігаючі діуретики, наприклад, амілорид, триамтерен, до нейтральних - антагоністи альдостерону, такі як канренон, спіронолактон, до слабкокислотних - інгібітори карбоангідрази, наприклад, ацетазоламід, тіазидні похідні та ті, що належать до них, наприклад, хлорталідон, а до сильнокислотних діуретиків - петлеві діуретики типу фуросеміду

та етакринної кислоти [2]. В основу класифікації було покладено тип функціональних груп у молекулі, а також значення  $pK_a$  [10]. Основні характеристики найбільш уживаних діуретиків наведено у табл. 1.

Амілорид (3,5-діаміно-6-хлоро-N-(діамінометил)-піразин-2-карбоксамід) та триамтерен (6-фенілптерідін-2,4,7-триамін) є калійзберігаючими діуретиками. Найчастіше вони застосовуються для лікування гіпертензії та хронічної серцевої недостатності, а також у комбінації з іншими діуретиками для коригування балансу електролітів. Механізм дії цих діуретиків включає блокування епітеліального натрієвого каналу та інгібування реабсорбції натрію. Амілорид та триамтерен збільшують кількість солі та води, які нирки виводять разом з сечею. Збільшуючи кількість води, що виводиться з крові, вони таким чином спричинюють зниження тиску. Ці діуретики можуть викликати гіперкалемію або ацидоз.

Буметанід (3-бутиламіно-4-фенокси-5-сульфамойл-бензойна кислота) застосовується для лікування серцевої та ниркової нездатності та набряків легень і мозку [11]. Він спричинює екскрецію натрію, калію, магнію та кальцію та подавляє транспорт хлоридів та реабсорбцію натрію у висхідній петлі Генле та проксимальному каналі. Фуросемід (5-(аміноссульфоніл)-4-хлоро-2-[(2-фуранілметил)аміно]бензойна кислота) широко використовується при лікуванні хронічної серцевої недостатності [12] та цирозу печінки [13]. Фуросемід блокує натрієво-хлоридний транспорт у висхідній петлі Генле та спричинює збільшення кількості води та виснаження електролітів. Буметанід у 40 разів ефективніший за фуросемід.

Тіазидні діуретики, такі як хлортіазид, гідрохлортіазид та бендрофлюметіазид, та ті, що до них належать (хлорталідон та метолазон), рекомендовано до застосування при лікуванні гіпертонії та хронічної серцевої недостатності [14]. Вони діють у дистальному звивистому каналці, частині нефрону у нирці, де подавляють натрієво-хлоридний транспорт. У результаті вода виділяється разом із сечею замість того, щоб абсорбуватися у кров [15]. Постійне лікування тіазидними діуретиками спричинює зменшення кров'яного тиску шляхом зниження периферійного опору (тобто розширення кровноносних судин). Механізм цього ефекту точно не відомий, проте він може включати пряму судинорозширювальну дію шляхом інгібування карбоангідрази [16] або десенсибілізації гладком'язових клітин судин внаслідок підвищення міжклітинного кальцію, спричинене норадреналіном [17].