

## 儿茶酚胺钽敏化发光性质的研究及分析应用

连宁<sup>1</sup>, 张明<sup>2</sup>, 张雅珩<sup>1</sup>, 贺香红<sup>1\*</sup>

1. 江苏理工学院化学与环境工程学院, 江苏 常州 213001

2. 常州工程职业技术学院制药学院, 江苏 常州 213614

**摘要** 儿茶酚胺(Cas)作为神经递质和激素对人体的生理功能发挥着重要作用。它是一类分子中包含一个胺基和一个邻苯二酚基团的有机化合物,其中邻苯二酚基团由苯环和3,4位两个羟基组成。生理条件下,儿茶酚胺主要指多巴胺(DA)、去甲肾上腺素(NE)和肾上腺素(E)三种物质。儿茶酚胺性质不稳定,遇光或空气易氧化分解。镧系敏化发光是一种很有前途的临床和药物分析工具,在镧系敏化发光中,镧离子与有机化合物形成络合物,这些络合物具有良好的发光特性,主要用于有机分析物的测定。因此,利用镧系金属离子钽敏化发光法测定儿茶酚胺的关键是待测物与中心离子易形成稳定的络合物。儿茶酚胺与金属离子的络合作用主要依赖于分子中酚羟基解离后的氧作为成键原子,溶液的碱性越强,儿茶酚胺与金属离子的络合能力越强。在碱性介质中,为防止金属离子水解加入乙二胺四乙酸作为协同配体,金属离子钽和协同配体以及儿茶酚胺形成易溶于水的三元络合物,络合物具有良好的稳定性,并表现出较强的钽的特征荧光。加入阳离子表面活性剂十六烷基三甲基氯化铵为增敏剂,可使儿茶酚胺三元络合物体系的荧光强度增加约4~6倍。利用紫外吸收和荧光光谱研究了钽三元络合物的光物理性质以及能量转移机理,结果表明,儿茶酚胺能有效吸收紫外辐射,三元络合物荧光增强机理是配体儿茶酚胺吸收辐射能后通过分子内能量转移将能量转移给钽离子,进而产生钽的特征发射。对影响三元络合物荧光强度的主要因素如溶液酸度、试剂浓度和加入顺序、表面活性剂种类以及干扰物质等进行了讨论。在一定条件下,体系的发光强度与儿茶酚胺的浓度成线性关系。多巴胺、去甲肾上腺素和肾上腺素的线性范围分别为 $0.080\sim 50.0\times 10^{-6}$ 、 $0.070\sim 50.0\times 10^{-6}$ 和 $0.070\sim 50.0\times 10^{-6}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;相应检出限分别为 $2.4\times 10^{-8}$ 、 $2.2\times 10^{-8}$ 和 $2.1\times 10^{-8}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。建立的方法用于药物制剂中三种儿茶酚胺的定量测定,结果满意;由于反应体系所得钽络合物具有发射带窄,斯托克斯位移大,以及较长的荧光寿命等优点,该方法有望用于儿茶酚胺的自动分析、临床药代动力学研究以及相关病理的实际诊断,也可用于高效液相色谱和毛细管电泳检测器。

**关键词** 儿茶酚胺;三元络合物;钽;荧光

**中图分类号:** O657.3

**文献标识码:** A

**DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)11-3487-06

### 引言

儿茶酚胺(Cas)是由酪氨酸在中枢和周围神经系统的神经元结构中通过酶级联的多步生物转化而产生的,在中枢和周围神经系统中作为神经递质和/或激素对人体的生理功能发挥着重要作用,与人类健康密切相关。多巴胺(DA)、肾上腺素(E)和去甲肾上腺素(NE)是三种较丰富的内源性儿茶酚胺。除了与阿尔茨海默氏症和帕金森氏症等疾病有关外,儿茶酚胺作为诱导刺激的串联释放物,也是衡量饮食、性和药

物成瘾等相关行为的重要指标<sup>[1]</sup>,在医疗上用于诊断和治疗帕金森氏症、心力衰竭、肥胖、抑郁和癫痫等疾病<sup>[2]</sup>。因此,临床和生物医学领域需要开发简单、快速、灵敏的方法来测定儿茶酚胺。

常见的测定儿茶酚胺的方法有分光光度法<sup>[3]</sup>、荧光法<sup>[4]</sup>、化学发光法<sup>[5]</sup>、电化学法<sup>[6]</sup>、毛细管电泳(CE)法<sup>[7]</sup>以及高效液相色谱(HPLC)法<sup>[8]</sup>等。实际应用中根据儿茶酚胺易氧化的性质常选择HPLC结合电化学法<sup>[8]</sup>作为定量测定儿茶酚胺及其代谢物的标准方法。虽然高效液相色谱法分析具有选择性好、检出限低的特点,但其一般需要复杂的前处

收稿日期: 2018-09-21, 修订日期: 2019-01-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(51872129), 江苏理工学院科研项目(KYY17002)资助

作者简介: 连宁, 1962年生, 江苏理工学院化学与环境工程学院教授 e-mail: ln@jsut.edu.cn

\* 通讯联系人 e-mail: hgxyln@163.com

理步骤；毛细管电泳易受样品中不同化合物相似电泳行为的影响；电化学法中，儿茶酚胺的氧化还原峰与尿酸、抗坏血酸等常见共存化合物有较大的重叠<sup>[9]</sup>。荧光法、化学发光法和质谱法是选择性测定儿茶酚胺的常见替代方法。荧光分析法具有灵敏度高、重现性好，简单方便、发射光谱变化大等特点而受到关注。近年来，一些纳米材料如量子点、碳点、金纳米以及纳米团簇等荧光纳米材料由于其独特的物理和化学性质，作为优良的荧光传感组成部分，用来灵敏的检测儿茶酚胺及其代谢物<sup>[10-13]</sup>。然而，大多数基于量子点和金纳米等儿茶酚胺荧光分析方法都是通过荧光猝灭来实现的，利用荧光增敏进行分析的比较少。本法利用稀土铽络合物荧光增敏进行分析，分析特性与文献报道相似<sup>[11-13]</sup>，且荧光分析的稳定性和重现性均较好。

儿茶酚胺与金属离子的络合作用主要依赖于分子中酚羟基解离后的氧作为成键原子。据文献报道<sup>[14]</sup>，通常儿茶酚胺在水溶液中有三级解离平衡， $pK_a$  值：多巴胺(8.85, 10.32, 12.62)，去甲肾上腺素(8.58, 9.53, 12.93)，肾上腺素(8.63, 9.84, 13.13)，其中  $K_{a1}$  和  $K_{a3}$  对应苯环上两个酚羟基的解离，而  $K_{a2}$  对应胺基的解离。根据解离平衡常数的大小，溶液 pH 12~13 时酚羟基易于解离与金属离子形成络合物。因此，溶液的碱性越强，儿茶酚胺与金属离子的络合能力越强。为防止金属离子在强碱性介质中发生水解，采用乙二胺四乙酸(EDTA)作为协同配体。本文基于铽与儿茶酚胺在协同配体 EDTA 存在下形成易溶于水的稳定三元络合物，加入阳离子表面活性剂十六烷基三甲基氯化铵为增敏剂能显著增强络合物荧光的特性，建立了一种简便、快速、灵敏的荧光法测定儿茶酚胺的新方法；该方法用于药物制剂中儿茶酚胺的测定，结果满意。并在实验基础上探讨了铽络合物的发光性质以及镧系敏化发光机理。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

Cary eclipse 荧光分光光度计；Cary 50 紫外/可见分光光度计；pHS-3C 型酸度计。盐酸多巴胺标准品、重酒石酸去甲肾上腺素标准品和盐酸肾上腺素标准品购于国药集团化学试剂有限公司；三种儿茶酚胺配成  $0.001 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  储备液储存于  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱中，临时使用时逐级稀释；乙二胺四乙酸二钠盐(EDTA, 分析纯, 国药试剂)；十六烷基三甲基氯化铵(CTAC, 分析纯, 国药试剂)；六水氯化铽(分析纯, 国药试剂)；其他试剂均为分析纯，实验用二次蒸馏水。Tb-EDTA ( $1:1, 0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )：1.8612 g  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  溶于少量  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 溶液中，然后加入 1.8664 g  $\text{TbCl}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  溶解后定容至 100 mL。

### 1.2 方法

在 10 mL 比色管中，依次加入一定量的儿茶酚胺标准溶液或样品溶液，1.0 mL  $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Tb(III)-EDTA 溶液和 1.0 mL  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 溶液，摇匀后加入 0.4 mL  $5.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  CTAC 溶液，再用水稀释至刻度摇匀，放置 20 min，分别进行紫外和荧光测定；荧光测量用 1

cm 比色皿，在激发波长 307 nm、发射波长 545 nm 下测定体系荧光强度( $I$ )，同时测定试剂空白的荧光强度( $I_0$ )，相对荧光强度( $\Delta I = I - I_0$ )与 Cas 的浓度呈线性关系。

## 2 结果与讨论

### 2.1 体系的紫外吸收光谱

儿茶酚胺及其三元络合物、Tb(III)-EDTA 的紫外吸收光谱如图 1 所示。由于芳香族苯环的 p 电子离域，儿茶酚胺是一种有效的紫外辐射吸收剂。由图 1 可知，单独的多巴胺、去甲肾上腺素和肾上腺素三种儿茶酚胺的最大吸收波长分别为 285, 295 和 298 nm；二元体系 Tb(III)-EDTA 或 Tb(III)-EDTA 中加入 CTAC 在 260~350 nm 范围内没有任何吸收，当儿茶酚胺加入二元体系 Tb(III)-EDTA 的胶束介质中后，在此范围内出现了新的吸收峰，多巴胺体系新峰位于 304 nm，去甲肾上腺素体系新峰位于 302 nm，肾上腺素体系新峰位于 300 nm，这些新峰与单纯的儿茶酚胺吸收峰相比较，发生了明显的红移，说明体系形成了新的三元络合物。通常情况下 Tb(III)-EDTA 形成 1:1 络合物，且络合物的配体中含有不稳定的水，易被其他较强配体所取代<sup>[15]</sup>；因此，在碱性溶液中儿茶酚胺的酚羟基完全解离后的氧作为成键原子取代水分子与 Tb(III) 配位，形成了 Cas-Tb(III)-EDTA 三元络合物。根据 EDTA 络合物特点和稀土离子配位数，结合上述

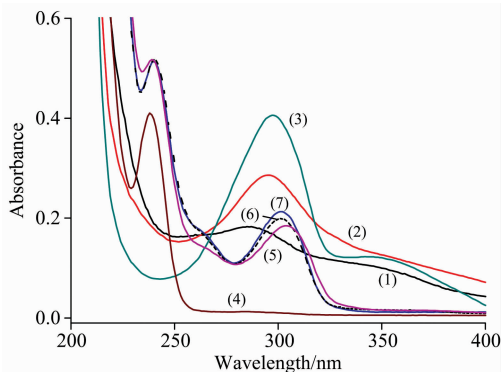


图 1 紫外吸收光谱

Fig. 1 UV Absorption spectra

- (1): DA; (2): NE; (3): E; (4): Tb(III)-EDTA;  
(5): DA-Tb(III)-EDTA-CTAC; (6): NE-Tb(III)-EDTA-CTAC;  
(7): E-Tb(III)-EDTA-CTAC

$$c_{\text{Cas}} = 4.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}, c_{\text{Tb(III)-EDTA}} = 1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}, c_{\text{CTAC}} = 2.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

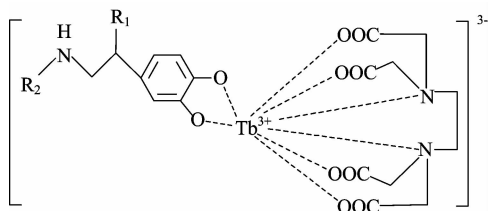


图 2 三元络合物结构示意图

Fig. 2 Chemical structure of the ternary complex

实验现象,推测儿茶酚胺与 Tb(III)-EDTA 形成的三元络合物的结构如图 2(DA: R<sub>1</sub>-H, R<sub>2</sub>-H; NE: R<sub>1</sub>-OH, R<sub>2</sub>-H; E: R<sub>1</sub>-OH, R<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>) 所示。

## 2.2 络合物的荧光光谱

不同体系络合物 Tb(III)-EDTA, Cas-Tb(III)-EDTA 及 Cas-Tb(III)-EDTA-CTAC 的荧光激发光谱和发射光谱分别如图 3 和图 4 所示。

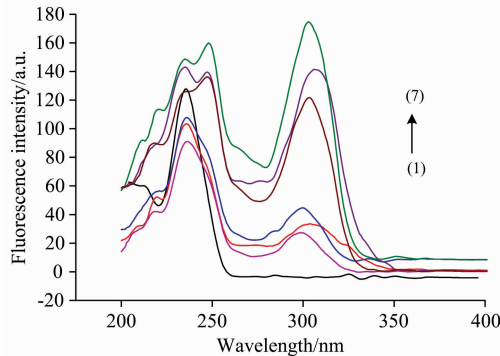


图 3 荧光激发光谱

Fig. 3 Fluorescence excitation spectra

(1): Tb(III)-EDTA; (2): DA-Tb(III)-EDTA; (3): NE-Tb(III)-EDTA; (4): E-Tb(III)-EDTA; (5): DA-Tb(III)-EDTA-CTAC; (6): NE-Tb(III)-EDTA-CTAC; (7): E-Tb(III)-EDTA-CTAC  
 $c_{\text{Cas}} = 5.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $c_{\text{Tb(III)-EDTA}} = 1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  
 $c_{\text{CTAC}} = 2.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\lambda_{\text{em}} = 545 \text{ nm}$

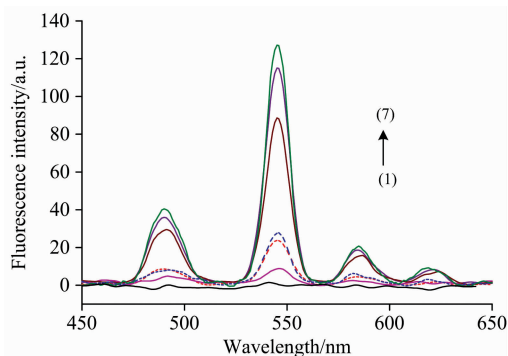


图 4 荧光发射光谱

Fig. 4 Fluorescence emission spectra

(1): Tb(III)-EDTA; (2): DA-Tb(III)-EDTA; (3): NE-Tb(III)-EDTA; (4): E-Tb(III)-EDTA; (5): DA-Tb(III)-EDTA-CTAC; (6): NE-Tb(III)-EDTA-CTAC; (7): E-Tb(III)-EDTA-CTAC  
 $c_{\text{Cas}} = 5.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $c_{\text{Tb(III)-EDTA}} = 1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  
 $c_{\text{CTAC}} = 2.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\lambda_{\text{ex}} = 303 \text{ nm}$

由图 3 的激发光谱可知,铽与 EDTA 二元络合物仅在 235 nm 处有一个激发峰,而儿茶酚胺与铽和 EDTA 的三元络合物在 235~248 和 297~305 nm 处分别有两个激发峰;激发光谱与紫外吸收光谱形状相似,波长相近,在此条件下,儿茶酚胺形成的三元络合物能有效吸收激发光显著增强铽的荧光强度。

由图 4 的荧光发射光谱可知,铽与 EDTA 二元络合物几

乎无荧光,向其中加入儿茶酚胺后,儿茶酚胺作为较强配体与 Tb(III) 发生共配位作用,形成 Cas-Tb(III)-EDTA 三元络合物,表现出铽的特征荧光峰,其中 545 nm 处荧光强度最大。这也从另一个方面证实三元络合物的形成,因为 Tb(III)-EDTA 二元络合物在 545 nm 处几乎无荧光。儿茶酚胺与铽和 EDTA 形成的三元络合物在 490, 545, 585 和 620 nm 处表现出窄的、尖锐的铽离子荧光特征,分别对应铽离子的  $^5D_4 \rightarrow ^7F_6$ ,  $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$  和  $^5D_4 \rightarrow ^7F_4$  的跃迁。产生这种现象的原因可用分子内能量转移来解释,即三元络合物配体中的儿茶酚胺能有效吸收激发光的能量,然后通过分子内能量转移将能量转移给铽,使铽离子发射的荧光强度显著增强。文献报道,儿茶酚胺分子的三线态能量( $T_1$ )约为  $20\,800 \sim 24\,000 \text{ cm}^{-1}$ ,与三价铽离子的  $^5D_4$  能级的能量  $20\,500 \text{ cm}^{-1}$  相比较,儿茶酚胺分子的能量接近并略高于三价铽离子的能量,能够发生有效的分子内能量转移<sup>[15]</sup>,从而产生较强的铽的特征荧光。因此,上述分子内能量转移主要历程推测如下,首先三元络合物中的儿茶酚胺配体接受激发光形成  $\text{Cas}^*-\text{Tb(III)-EDTA}$  激发态,然后通过分子内能量转移由  $\text{Cas}^*$  将能量转移给铽离子,形成  $\text{Cas-Tb(III)}^*-\text{EDTA}$  激发态,随后此激发态以辐射失活过程释放能量回到基态,从而形成铽离子的特征发射。上述分子内能量转移机理可表示如下:

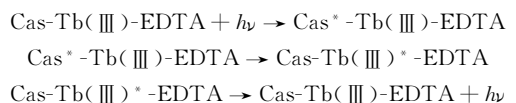


图 3 的激发光谱还表明在 CTAC 胶束介质中三元络合物的激发光谱峰位产生轻微的红移,且峰有显著的增强。此外,从图 4 的荧光发射光谱还可看出三元络合物的荧光在 CTAC 存在下有显著增强,推测其原因可能是一方面阳离子表面活性剂 CTAC 与儿茶酚胺三元络合物之间产生了较强的静电相互作用,另一方面在胶束表面 pH 值的增高可能降低了游离儿茶酚胺酚羟基的 pKa 值,更利于三元络合物的形成。此外,当三元络合物与表面活性剂胶束相互作用分散和聚集时,其微环境的改变在很大程度上降低了由于分子碰撞导致的非辐射能量损失,提高了荧光量子效率,更有效地促进分子内能量转移。

## 2.3 酸度的影响

酸度是影响络合物荧光强度的主要因素,用稀盐酸或氢氧化钠调节溶液 pH 为 9.0~13.0,测试了儿茶酚胺在过量 Tb(III) \* EDTA 存在下的荧光强度,结果表明,在 pH 12.0~13.0 酸度条件下,三元络合物的荧光强度最强,此酸度与儿茶酚胺酚羟基完全解离的酸度一致。同时还实验了 Tris-HCl, NH<sub>4</sub>Cl-NH<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-NaHCO<sub>3</sub>, NaOH 以及硼酸盐等不同缓冲溶液的影响,结果表明使用氢氧化钠控制 pH 的效果最好,因此后续实验选择用 0.01 mol · L<sup>-1</sup> 氢氧化钠调节溶液酸度。

## 2.4 Tb(III)-EDTA 浓度的影响

在 pH 12 的酸度条件下研究了 Tb(III)-EDTA 浓度对三元络合物荧光强度的影响,荧光强度起初随 Tb(III)-EDTA 浓度的增加而显著增强,当浓度超过  $0.5 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,荧光强度达到最大值并稳定不变。后续实验选择其浓度

为  $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 此条件下儿茶酚胺形成络合物的速度很快并且很稳定。

## 2.5 表面活性剂的影响

实验检测了不同种类表面活性剂对三元络合物荧光强度的影响, 在选定的酸度下, 阳离子表面活性剂对络合体系有较好的增敏作用。当所加阳离子表面活性剂(例如 CTAC)的浓度接近或大于临界胶束浓度时, 荧光强度显著增强, 与不加 CTAC 的体系相比, 荧光强度增加约 4~6 倍。而十二烷基苯磺酸钠等阴离子表面活性剂以及曲拉通 X-100 等非离子型表面活性剂则没有增敏作用。增敏作用主要可能是带正电荷的阳离子胶束与带负电荷的络合物之间产生了较强的静电作用。同时实验了 CTAC 浓度对荧光强度的影响, 体系的荧光强度随 CTAC 浓度的增加而增大, 当浓度达到  $2.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 体系荧光强度达到最大, 然后随浓度增加荧光强度减小, 因此, 后续实验选择 CTAC 浓度为  $2.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

## 2.6 试剂加入顺序和稳定性实验

实验结果表明, 试剂加入顺序为 Tb(III)-EDTA、儿茶酚胺、氢氧化钠、CTAC 时, 反应生成的三元络合物的荧光强度最大, 该顺序为最佳试剂加入顺序。在选择的最佳实验条件下, 反应体系在加入试剂 10 min 后其荧光强度达到最大, 并且具有良好的稳定性, 其荧光强度能稳定维持 8 h。与金属离子和儿茶酚胺二元络合物相比(约稳定 1 h), 稳定性有很大的提高。

## 2.7 干扰物质的影响

在选定的实验条件下, 考察了用荧光法测定儿茶酚胺( $5.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )时可能共存物质的干扰影响。以干扰物质存在下待测体系荧光强度变化不超过  $\pm 5\%$  作为判据, 若超过 5%, 则视为有干扰; 反之无干扰。儿茶酚胺药物制剂和生物样品中常见离子和生物物质的干扰情况见表 1。结果表明, 大多数常见的药物辅料等共存物质不影响 Cas 的测定。

表 1 测定儿茶酚胺时各种共存物质的最大允许量

Table 1 Tolerance limit for possible interferences in determination of Cas

干扰物质	最大允许量/ $(\times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$			干扰物质	最大允许量/ $(\times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$		
	DA	NE	E		DA	NE	E
$\text{Na}^+, \text{K}^+, \text{Cl}^-, \text{NO}_3^-$	25	25	25	淀粉	2.5	5	5
$\text{Ca}^{2+}, \text{SO}_4^{2-}$	5	5	5	葡萄糖	1.25	1.5	1.5
$\text{Mg}^{2+}, \text{SO}_4^{2-}$	5	2.0	2.5	乳糖	1.25	1.25	1.25
$\text{Zn}^{2+}, \text{Mn}^{2+}, \text{PO}_4^{3-}$	2.5	1.5	1.25	蔗糖、尿酸	0.25	0.25	0.25
$\text{Fe}^{3+}$	0.5	0.25	0.25	胱氨酸、柠檬酸	5	5	5
焦亚硫酸钠、间苯二酚	5	5	5	普鲁卡因、丁卡因	2.5	2.5	2.5

## 2.8 校准曲线和检出限

在最佳条件下, 体系的荧光强度与儿茶酚胺的浓度呈良好的线性关系, 线性范围和回归方程如表 2 所示。多巴胺、去甲肾上腺素和肾上腺素的线性范围分别为  $0.080 \sim 50.0 \times$

$10^{-6}$ ,  $0.070 \sim 50.0 \times 10^{-6}$  和  $0.070 \sim 50.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 相应的检出限多巴胺为  $2.4 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、去甲肾上腺素为  $2.2 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、肾上腺素为  $2.1 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表 2 儿茶酚胺的分析特性 ( $n=3$ )

Table 2 Analytical characteristics of the Cas ( $n=3$ )

Cas	线性范围/ $(\times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$	回归方程	$R^2$	检出限/ $(\times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$	RSD
DA	0.080~50.0	$\Delta I = 15.02 \times 10^6 c + 12.29$	0.999 1	2.4	0.98
NE	0.070~50.0	$\Delta I = 15.97 \times 10^6 c + 6.73$	0.999 3	2.2	0.96
E	0.070~50.0	$\Delta I = 16.78 \times 10^6 c + 7.36$	0.999 4	2.1	0.95

注: R: 相关系数 (correlation coefficient); RSD: 相对标准偏差 (Relative standard deviation)

## 2.9 药物分析

为了验证方法的有效性, 对不同药物制剂中的儿茶酚胺按照本法进行了分析。制剂分别采用盐酸多巴胺 (H32023366), 重酒石酸去甲肾上腺素 (H12020621) 和盐酸肾上腺素 (H12020526) 三种注射液作为样品, 分析时取一定量样品直接用二次蒸馏水稀释, 使其浓度位于线性范围内, 然后按照实验方法进行测定, 同时用标准加入法进行回收率测定。结果表明, 本法测定的结果与标示值无显著差别; 标准加入法三种药物的回收率测定结果多巴胺为 97.5%~98.0%、去甲肾上腺素为 98.5%~101.0%、肾上腺素为

99.0%~102.0%; 分析结果见表 3。

## 3 结论

镧敏化发光法用于药物制剂中儿茶酚胺的测定, 结果满意。方法的主要优点是简单、快速和灵敏, 重现性和稳定性好。由于反应体系所得镧络合物具有斯托克斯位移大, 荧光强度高以及荧光寿命长等优点, 本法若用于时间分辨荧光检测有望进一步提高分析的灵敏度和选择性。此外, 本法还可用于自动分析、临床药代动力学研究、儿茶酚胺相关病理的

实用诊断,也可用于 HPLC 和 CE 检测器。

表 3 药物针剂中儿茶酚胺的分析( $n=3$ )  
Table 3 Assay of the Cas in injection ( $n=3$ )

样品	样品含量		标准加入法		回收率 /%
	标示值/ ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	本法/ ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	加入量/ ( $\times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	测得量/ ( $\times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	
DA (H32023366)	10	9.89 $\pm$ 0.03	2.00 4.00	1.96 $\pm$ 0.03 3.90 $\pm$ 0.04	98.0 97.5
NE (H12020621)	2	1.94 $\pm$ 0.03	2.00 4.00	1.97 $\pm$ 0.02 4.04 $\pm$ 0.04	98.5 101.0
E (H12020526)	1	0.97 $\pm$ 0.02	2.00 4.00	1.98 $\pm$ 0.02 4.08 $\pm$ 0.04	99.0 102.0

注: 平均值 $\pm$ 标准偏差(mean $\pm$ SD)

## References

- [ 1 ] Ribeiro J A, Fernandes P M V, Pereira C M, et al. Talanta, 2016, 160(11): 653.
- [ 2 ] Fonseca B M, Rodrigues M, Cristóvão A C, et al. Chromatogr. B, 2017, 1049-1050(4): 51.
- [ 3 ] Gorbunova M V, Apyari V V, Dmitrienko S G, et al. Anal. Chim. Acta, 2016, 936(9): 185.
- [ 4 ] YU Xi-juan, HAN Lu-lu, HUN Xu(于锡娟, 韩璐璐, 混旭). Chemical Journal of Chinese Universities(高等学校化学学报), 2017, 38(12): 2169.
- [ 5 ] Duan H M, Li L L, Wang X J, et al. Spectrochim. Acta Part A, 2015, 139(3): 374.
- [ 6 ] HE Quan-guo, LIANG Jing, LI Guang-li, et al(贺全国, 梁静, 李广利, 等). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2018, 46(3): 438.
- [ 7 ] Sánchez-López E, Montealegre C, Crego A L, et al. TrAC, Trends Anal. Chem., 2015, 67(4): 82.
- [ 8 ] Woo H I, Yang J S, Oh H J, et al. Clin. Biochem., 2016, 49(7-8): 573.
- [ 9 ] Vreeland R F, Atcherley C W, Russell W S, et al. Anal. Chem., 2015, 87(5): 2600.
- [ 10 ] Pathath A R, Jae S L. Microchim. Acta, 2017, 184(5): 1239.
- [ 11 ] Wang B, Chen M M, Zhang H Q, et al. Microchim. Acta, 2017, 184(9): 3189.
- [ 12 ] Zhao J J, Zhao L M, Lan C Q, et al. Sens. Actuators, B, 2016, 223(2): 246.
- [ 13 ] Zhang Y L, Qi S J, Liu Z G, et al. Mater. Sci. Eng. C, 2016, 61(4): 207.
- [ 14 ] Rahmiye Aydın, Duygui İnci. J. Chem. Eng. Data, 2012, 57(3): 967.
- [ 15 ] Cable M L, Levine D J, Kirby J P, et al. Luminescent Lanthanide Sensors, Advances in Inorganic Chemistry. San Diego: Elsevier Academic Press, 2011. 4.

# Study on Terbium Sensitized Luminescence Properties of Catecholamine and Its Application

LIAN Ning<sup>1</sup>, ZHANG Ming<sup>2</sup>, ZHANG Ya-heng<sup>1</sup>, HE Xiang-hong<sup>1\*</sup>

1. School of Chemistry and Environmental Engineering, Jiangsu University of Technology, Changzhou 213001, China

2. School of Pharmaceutical, Changzhou Vocational Institute of Engineering, Changzhou 213614, China

**Abstract** Catecholamines (Cas) plays an important role in physiological function of human body as neurotransmitter and hormone. They are organic compounds that contain an amine group and a catechol group that is constituted by a benzene ring with two hydroxyl groups at 3- and 4-positions. In physiological conditions, catecholamine mainly refers to dopamine (DA), norepinephrine (NE) and adrenaline (E). Catecholamines are chemically unstable, prone to spontaneous oxidation and decompose easily when exposed to light or air. Lanthanide sensitized luminescence is a promising tool for clinical analysis and drug analysis. In lanthanide sensitized luminescence, lanthanide ions form complexes with organic compounds, these chelates display a well-defined luminescence characterized, mainly for the determination of organic analytes. Therefore, the key to determining catecholamine by the terbium sensitization luminescence is that the analyte forms an effective and stable complex with the central ion. It is a general understanding that catecholamines form rather stable chelate complexes with metal ions, the two oxygen of the phenolic groups acting as donor atoms. Therefore, the more alkaline the solution, the stronger the complex ability of catecholamine and metal ions. In order to prevent hydroxide formation ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) is added into the alkaline solutions, EDTA as synergistic ligand serves to chelate  $Tb^{3+}$  with high affinity and keeps it soluble in water, terbium ion and synergistic ligands and catecholamines form stable ternary complex soluble in water and exhibit strong characteristic fluorescence of terbium. The system with cationic surfactant cetyltrimethylammonium chloride (CTAC) as sensitizer, can make the luminescence for catecholamine chelates increased by a factor of 4 to 6. UV absorption and fluorescent spectra were used to investigate the photophysical properties of the ternary complex and energy transfer mechanism. The study shows that the catecholamine is an effective absorber of ultraviolet radiation, and the possible mechanism of the ligand sensitized fluorescence may be explained based on intramolecular energy transfer. In the energy transfer process, the ligand catecholamine absorbs the radiation energy and transfers the energy to terbium ion through intramolecular energy transfer, thus generating characteristic emission of terbium. The main factors affecting the fluorescence intensity of ternary complex, such as solution acidity, reagent adding concentration and sequence, types of surfactants and interfering substances, etc., were discussed. Under the optimized condition, the luminescence intensity of the system is linearly related to the concentration of the catecholamines. Linearity is observed in the concentration ranges of  $0.080 \sim 50.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  for dopamine,  $0.070 \sim 50.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  for norepinephrine, and  $0.070 \sim 50.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  for epinephrine, with limits of detection as low as  $2.4 \times 10^{-8}$ ,  $2.2 \times 10^{-8}$  and  $2.1 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectively. The proposed method has been successfully applied to the quantitative determination of the three catecholamines in a pharmaceutical preparation. Due to the advantages of narrow emission bands, large stokes shift and long excited-state lifetimes, it will be possible to investigate this method further for automated analysis, clinical pharmacokinetics study, practical diagnostic for catecholamine-related pathologies, and it can be used in HPLC and CE detectors.

**Keywords** Catecholamines; Ternary complex; Terbium; Fluorescence

(Received Sep. 21, 2018; accepted Jan. 19, 2019)

\* Corresponding author