Сенсибилизированная люминесценция ионов лантанидов и ее применение в биоанализе (обзор)

А.В. Егорова, Ю.В. Скрипинец, Д.И. Александрова, В.П. Антонович

Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины 65080 Одесса, Люстдорфская дорога, 86, Украина; e-mail: yegorova@interchem.com.ua

Поступила: 20 сентября 2009 г / Принята к опубликованию: 20 декабря 2009 г.

Рассмотрены основы люминесцентного метода анализа с использованием характеристической 4f-люминесценции ионов лантанидов. Систематизированы разнообразные возможности применения этого метода для определения низких концентраций лекарственных препаратов и их метаболитов, белков, ферментов, ДНК, а также для целей иммунофлуоресцентного анализа

A.V. YEGOROVA, Y.V. SCRIPINETS, D.I. ALEKSANDROVA, V.P. ANTONOVICH. *SENSITIZED LUMINESCENCE OF LANTHANIDE IONS AND ITS APPLICATION IN BIOASSAY. – Principles of luminescent method of analysis with the use of characteristic 4f - luminescence of lanthanide ions (Ln) are considered. Various possibilities of application of this method are systematized for the determination of low concentrations of drugs and their metabolites, proteins, enzymes, DNA, and also for the aims of fluoroimmunoassay.*

Ключевые слова: люминесценция, европий, тербий, биоанализ

Keywords: luminescence, europium, terbium, bioassay

Введение

Биоаналитическая химия, один из самых актуальных разделов аналитической химии, связана с анализом биомедицинских объектов и определением биологически активных веществ, в том числе различных лекарственных препаратов. Именно биоаналитика служит методологической и методической базой получения исходной информации, необходимой для принятия обоснованных решений в токсикологии, медицинской диагностике, контроле качества фармацевтической и пищевой продукции, экологии, в исследованиях биодоступности и биоэквивалентности лекарственных препаратов-генериков. В биоаналитической химии применяют практически весь ассортимент химических, физико-химических, физических и биологических методов анализа, прежде всего селективных и высокочувствительных. Наряду с хроматографическими и радиоизотопными, к таким методам относится люминесцентный анализ.

В последние годы для определения низких концентраций лекарственных препаратов и их метаболитов, белков, ферментов и ДНК предложено использовать различные варианты люминесцентного метода, в том числе основанного на характеристической 4f-люминесценции ионов лантанидов (Ln), сенсибилизированной лигандным окружением центрального иона.

Сенсибилизированная люминесценция (СЛ) европия (III) и тербия (III) в их комплексах с различными лекарственными препаратами эффективно используется для определения последних. В качестве аналитических форм для определения лиганда-сенсибилизатора люминесценции центрального иона применяют однородно- и разнолигандные комплексы. В работах последних лет показаны возможности многоцелевого использования разнолигандных комплексов лантанидов: как для определения основного лиганда, как правило, хелатообразующего, так и «второго», чаще всего, монодентатного компонента координационного окружения центрального иона.

В последние годы возрастает интерес к изучению взаимодействия ионов лантанидов с белками, нуклеотидами, нуклеиновыми кислотами, тканями растений и животных; исследованию свойств и функций биохимических систем; применению комплексов лантанидов в микроскопии и проточной цитофлуорометрии, в гомогенном и гетерогенном иммунном анализе, для создания ДНК – зондов [1–6].

В данной статье предпринята попытка анализа и систематизации многочисленных литературных данных о биоаналитическом использовании СЛ лантанидов с целью прогнозирования наиболее актуальных задач этого научного направления.

Спектрально-люминесцентные характеристики ионов лантанидов и их комплексных соединений

Ионы лантанидов вступают во взаимодействие с биологически активными веществами (БАВ), замещая ионы кальция, и вследствие их

© А.В. Егорова, Ю.В. Скрипинец, Д.И. Александрова, В.П. Антонович

специфических спектроскопических свойств могут служить зондами, обеспечивающими информацию об этих веществах и биохимических процессах, происходящих в них. Ионы Ca(II) и Ln(III) схожи по размеру, природе образования связей в биологических системах, их координационной геометрии. Для этих ионов характерны координационные числа выше шести, а ионные радиусы близки по значению: 0,100–0,118 нм для Ca(II) и 0,086–0,122 нм для Ln(III). Подобно кальцию, лантаниды являются жесткими кислотами и проявляют большее сродство к кислороду (O > N > S). Ионы Ln(III) по сравнению с ионами Ca (II) обладают большим зарядом, который ответственный за большую стабильность Ln(III) комплексов. Несмотря на вышеперечисленные подобия, эти ионы очень различны по своим спектроскопическим свойствам. Соединения ионов кальция бесцветны, диамагнитны и не способны к люминесценции, тогда как соединения некоторых лантанидов окрашены, парамагнитны и проявляют характерное излучение.

Специфические физико-химические свойства Ln связаны с особенностями их электронной структуры. Электронные переходы внутри 4f-уровня ответственны за характеристическое поглощение и узкополосные спектры люминесценции, а также длительное время жизни возбужденных состояний (порядка миллисекунд), что позволяет использовать данные ионы для целей биоанализа. Однако, интенсивность люминесценции ($I_{люм}$) ионов лантанидов при возбуждении в полосах поглощения, соответствующих f – f переходам, невелика вследствие небольших значений молярных коэффициентов поглощения (ε). Как правило, для целей анализа используют сенсибилизацию люминесценции лантанидов в комплексах с органическими лигандами [7].

Наиболее важная роль в биохимических исследованиях отводится ионам европия (III) и тербия (III), для которых энергетические зазоры между низшим излучательным уровнем и основным состоянием обеспечивают наиболее высокую интенсивность люминесценции.

Спектры люминесценции комплексов Eu(III) обусловлены $^5D_0 \rightarrow {}^7F_J$ (J=0–4) переходами. Переход $^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$ (ΔJ=≤2) является сверхчувствительным (СЧП). Оптические свойства комплексов Eu(III) характеризуются соотношением интенсивностей двух полос ($\eta = I(^5D_0 \rightarrow {}^7F_2) / I(^5D_0 \rightarrow {}^7F_1)$, – одной, соответствующей СЧП, и другой, соответствующей магнитно-дипольному переходу. Данный параметр характеризует изменения, происходящие в спектрах люминесценции при комплексообразовании, т.е. влияние поля лиганда на вероятность излучательного перехода электронов в ионах металла с возбужденных на ниже расположенные уровни [8]. Запрещенный переход $^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$ (575–581 нм) между невырожденными состояниями типичен для данного химического окружения ионов Eu(III) и широко используются для изучения симметрии комплексов. В водных растворах время жизни уровня $^5D_0$ находится в диапазоне 0,1–2,0 мс [9].

Расщепление полос люминесценции ионов европия на ряд компонент в кристаллических полях (эффект Штарка) позволяет определять симметрию ближайшего окружения ионов европия (III), а также дает возможность использовать их в качестве люминесцентного зонда в биоанализе [10, 11].

Ионы Tb(III) в растворах его комплексов излучают с $^5D_4$ уровня.

Полоса, соответствующая переходу $^5D_4 \rightarrow {}^7F_5$, чувствительна к внешнему и внутреннему окружению иона металла в комплексе. В водных растворах время жизни уровня $^5D_4$ находится в диапазоне 0,4–5,0 мс [12].

Иногда в биоанализе используют люминесценцию ионов самария (III) и диспрозия (III). В водных растворах время жизни уровня $^4G_{5/2}$ (для комплексов Sm) составляет около 50 мс, а для уровня $^4F_{9/2}$ (для комплексов Dy) около 10 мкс.

Измерение времени жизни Eu(III) или Tb(III) в H_2O и D_2O дает информацию о числе молекул воды во внутренней координационной сфере иона металла [13].

Согласно существующим представлениям при поглощении кванта света молекула органического соединения переходит в возбужденное синглетное состояние (S_1), из которого часть молекул переходит в триплетное состояние (T_1), обладающее большей продолжительностью жизни, так как переход из него в основное состояние запрещен. С триплетного уровня молекула может вернуться в основное состояние в результате запрещенного по спину перехода ($T \rightarrow S_0$, молекулярная фосфоресценция), либо передаваться на резонансный уровень иона Ln(III), который при этом переходит в возбужденное состояние и затем высвечивает, выделяя квант света [14, 15].

Для эффективного переноса энергии возбуждения необходимы следующие условия:

1) наличие комплексообразующих групп и высокая дентатность лиганда;

2) дезактивирующие лигандные переходы $S_1 \rightarrow S_0$ либо $T_1 \rightarrow S_0$ должны быть минимальными;

3) энергия триплетного состояния лиганда приблизительно равна или больше энергии резонансного уровня иона Ln(III);

4) безызлучательные переходы возбужденных ионов Ln(III) должны быть минимизированы.

Для ионов лантанидов и их комплексных соединений характерны узкополосные спектры испускания, большой стоксов сдвиг (150–300 нм), большое время жизни (10 мкс – 3 мс), что позволяет проводить детектирование сигнала с разрешением во времени (элиминирование

фонового излучения) и, соответственно, применять СЛ ионов лантанидов для высокочувствительного определения широкого круга БАВ.

Факторы, влияющие на интенсивность сенсибилизированной люминесценции лантанидов

Для усиления СЛ и предотвращения диссипации энергии возбуждения используют органические растворители, донорно-активные вещества (ДАВ) и поверхностно-активные вещества (ПАВ), влияние тяжелых атомов и явление солюминесценции [16].

Ионы Ln(III) образуют устойчивые комплексы со многими органическими лигандами [17]. Как правило, в таких комплексах высокая координационная емкость Ln(III) реализуется не полностью, а свободные места в координационной сфере иона лантанида способны занимать молекулы воды, оказывающие тушащее действие. Этот отрицательный эффект устраняют введением в систему органических растворителей и ДАВ, вытесняющих молекулы воды из координационной сферы иона лантанида.

В качестве ДАВ эффективны аминополикарбоксилаты, трифенилфосфиноксид (ТФФО), триоктилфосфиноксид (ТОФО), 1,10-фенантролин, α, α′ - дипиридил, др. [18–20]. ТОФО, благодаря наличию атома кислорода и трех гидрофобных октильных цепочек, защищает не только ионы Ln(III), но и органический лиганд от дезактивирующих влияний молекул воды. Установлено, например, что $I_{люм}$ в комплексе Tb(III) с мефенаминовой кислотой в присутствии ТОФО увеличивается в 10–16 раз [21].

В разнолигандных комплексах возможен дополнительный перенос энергии возбуждения от молекул органических оснований к лиганду-сенсибилизатору, а затем к иону лантанида [22]. Так, при образовании комплекса Tb-ибупрофен-фенантролин энергия возбуждения, очевидно, передается от фенантролина (20650 $см^{-1}$) на триплетный уровень ибупрофена (20530 $см^{-1}$), а затем на ион Tb(III) [23], что приводит к увеличению $I_{люм}$ ~ в 100 раз. В комплексе Eu(III) – цинхофен $I_{люм}$ возрастает в присутствии фенантролина ~ в 20 раз [24, 25].

Замена воды органическим растворителем часто приводит к увеличению $I_{люм}$ иона Ln(III). Механизм влияния растворителя на спектрально-люминесцентные характеристики очень сложен [26] Растворитель влияет на химизм реакции, устойчивость комплексов, кислотно-основное равновесие лиганда, пересольватацию иона металла и его комплексных форм в растворе. Увеличение $I_{люм}$ в зависимости от содержания растворителя связано со способностью молекул растворителя вытеснять молекулы воды сначала из внешней, а затем и из внутренней координационной сферы комплексов [27], что предотвращает процессы дезактивации энергии возбуждения. Наибольшее негативное влияние на интенсивность и время жизни люминесценции ионов Ln(III) оказывают молекулы воды, находящиеся во внутренней координационной сфере комплекса [28]. Пересольватация молекулами органических растворителей часто минимизирует этот эффект.

Так, $I_{люм}$ Tb(III) в комплексах с катехоламинами [29] значительно возрастает (~ в 100 раз) в изопропанольных растворах. Комплексы Tb(III) с фенилсалицилатом [30] и оротовой кислотой [31] обнаруживают наибольшую $I_{люм}$ в диметилсульфоксидных растворах ($I_{люм}$ возрастает ~ в 15 раз), а с фуросемидом – в этанольных [32].

Эффективность СЛ комплексов Ln(III) значительно зависит от pH среды, что связано с кислотно-основными равновесиями лиганда и комплекса, процессами гидролиза ионов лантанидов [33]. Для устранения гидролиза Tb(III) в щелочных растворах использовали ЭДТА, которую можно рассматривать также в качестве второго лиганда [34–37].

Введение ПАВ в систему Ln(III) – лиганд способствует диспергированию молекул комплекса, возрастанию микроупорядоченности и жесткости структуры образующихся соединений. Вхождение ПАВ во внутреннюю сферу комплекса приводит к его дегидратации и уменьшению безызлучательных потерь энергии возбуждения [38, 39].

Известно, что тяжелые атомы могут увеличивать спин-орбитальный эффект взаимодействия, что приводит к смешению электронных состояний – синглетного и триплетного, в результате спиновый запрет на интеркомбинационный переход уменьшается, а его скорость и, соответственно, эффективность люминесценции возрастают. Цезий является наиболее эффективным среди тяжелых атомов (иодид, барий, цезий, рубидий), увеличивающий СЛ Ln(III) [34, 40, 41].

Аналитический интерес представляет эффект солюминесценции, который основан на поглощении света хелатами неизлучающих ионов Y(III), La(III) или Gd(III) [42, 43]. В результате межмолекулярной передачи энергии происходит увеличение СЛ ионов Tb(III) и Eu(III).

Применение люминесцентных зондов для определения биологически активных соединений

Комплексные соединения Ln(III) широко применяются для люминесцентного определения БАВ, выступающих в качестве лигандов [44]. Эффективность процесса переноса энергии определяется наличием функциональных групп, ответственных за процесс комплексообразования, а так же зависит от соответствия уровня энергии лиганда и лантанида. Данные условия сужают круг

© А.В. Егорова, Ю.В. Скрипинец, Д.И. Александрова, В.П. Антонович

органических соединений, которые могут быть использованы в качестве сенсибилизаторов люминесценции ионов Ln(III) [45].

СЛ лантанидов широко используется для изучения структуры и определения белков и пептидов [46–49], нуклеотидов [50, 51], аминокислот [52, 53], фосфолипидов [54], ферментов [55, 56], ряда компонентов пищевых продуктов [57–59] и косметических средств [60, 61], а также широкого круга лекарственных препаратов в биожидкостях и в дозированных лекарственных формах. Это связано с рядом преимуществ люминесцентного метода по сравнению с радиоизотопными [62], спектрофотометрическими, электрохимическими:

высокая чувствительность, воспроизводимость и селективность;

простота автоматизации люминесцентного мониторинга;

элиминирование фонового излучения (возможность определения лекарственных препаратов без отделения от биоматрицы);

возможность измерения нескольких характеристик: $I_{люм}$, квантовый выход, поляризуемость, эффективность затухания (время жизни);

возможность использования в кинетических методах, а также для детектирования в методах ВЭЖХ и капиллярного электрофореза.

Основным преимуществом определения БАС с помощью СЛ Ln(III) является отсутствие необходимости отделения определяемого компонента от биоматрицы [63]. Хотя известны методы, требующие предварительной пробоподготовки анализируемого образца, в частности, отделения белков (например, определение окситетрациклина в молоке [64], щелочного гидролиза в случае анестезина и новокаина с образованием *п*-аминобензойной кислоты [65] и фталевых эфиров [66]. Нагревание глюкозы до 175°С с образованием альдегида дает возможность косвенного определения глюкозы с ионами диспрозия [67]. Возможна экстракция определяемого компонента в органический растворитель или сорбция на твердую матрицу (вариант твердофазной люминесценции). Использование твердофазной спектрофлуориметрии позволяет существенно ускорить ход анализа, а в ряде случаев снизить пределы обнаружения, разработать тест-методики определения, например, ципрофлоксацина и норфлоксацина в моче и плазме с использованием цеолита типа СаА [68].

С помощью СЛ лантанидов определяют лекарственные препараты различных классов (**табл.1**), молекулы которых способны к комплексообразованию с ионами Ln(III):

1. производные бензойной и салициловой кислот [33, 69, 70].
2. нестероидные противовоспалительные лекарственные препараты – производные антраниловой, пропионовой кислот [21, 71–74];
3. хинолоны и фторохинолоны, способные благодаря наличию кето- и карбоксильных групп образовывать комплексные соединения с ионами лантанидов: ломелофлоксацин [75, 76], энрофлоксацин [77], налидиксовая кислота [78, 79], норфлоксацин [80–82], эноксацин [83], пефлоксацин [84], пипемидиевая кислота [85], ципрофлоксацин [86], левофлоксацин [87], спарфлоксацин [88], моксифлоксацин [89], тровафлоксацин [90], гатифлоксацин [91]. Показана возможность совместного определения ципрофлоксацина и тетрациклина с помощью их комплексов с ионами Eu(III) и Tb(III) [92];
4. антибиотики тетрациклинового ряда, способные благодаря наличию фенольных, кето-, енолизированных β-дикетонатных групп образовывать комплексные соединения с ионами европия: тетрациклин [93–95], окситетрациклин [96–99], метациклин [100, 101], демеклоциклин [102], хлортетрациклин [19, 103] и доксициклин [104, 105];
5. антибиотики других групп – цефалоспоринов [106, 107], аминогликозидов [108], пенициллинов [109, 110];
6. препараты различных классов: теофиллин [111, 112], сальбутамол [20], цинхофен [113], стероидные гормоны [114], пелентан [115], катехоламины [34, 116, 117], фенилсалицилат [30], фуросемид [32], оротовая кислота [31, 118, 119], циклопирокс оламин [120].

Известны косвенные определения некоторых БАС с использованием комплексных соединений европия и тербия:

- нервнопаралитических отравляющих веществ (зарин, зоман) по тушению $I_{люм}$ комплексов европия и тербия с ТТА и Фен [121];
- антибиотика зидовудина по увеличению $I_{люм}$ комплекса Eu с ТТА [122];
- гормона щитовидной железы – тироксина по тушению $I_{люм}$ комплекса Eu с пиридин-2,6-дикарбоновой кислотой (ПДК) [123].

Регистрация кинетических параметров СЛ лантанидов позволяет понизить пределы обнаружения многих БАС, способствует улучшению селективности. Этот положительный эффект использован при определении бромадиолона [124], лазалоцида [125], дифацинона [126]. Высокую начальную скорость систем, проявляющих СЛ, можно рассчитывать из кинетических кривых с использованием метода остановленной смешивающейся струи (прерывание потока), что способствует частичной автоматизации методов и их применению в рутинном анализе. В таком варианте этот метод можно использовать для одновременного определения тетрациклина и доксициклина в плазме крови [104], пропилгаллата (ПГ) и

бутилгидроксианизола (БГА) в пищевых образцах [127]. В последнем случае метод основан на двух различных реакциях образования комплекса тербий – ПГ и БГА с нильским голубым (отсутствие наложения в спектрах эмиссии обоих систем позволяет вести определение ПГ и БГА при совместном присутствии).

Перспективно селективное и чувствительное определение бактериальных спор, основанное на образовывании люминесцирующих комплексов Tb(III) с дипиколинат-анионом, который входит в состав спор [128]. Лантанидная люминесценция используется для визуализации раковых клеток [129], белков [130], в гистологических исследованиях [131].

Широкое применение при определении лекарственных препаратов нашел проточно-инжекционный анализ в сочетании с хемилюминесценцией [132], позволяющий понизить пределы обнаружения таких лекарственных препаратов как ципрофлоксацин, пазуфлоксацин, тозуфлоксацин [133–135]. Этот метод основан на реакции окисления-восстановления между Ce(IV) и сульфит-ионом с образованием продукта реакции в возбужденном состоянии (SO_2^*), в результате которой происходит передача энергии от SO_2^* на триплетный уровень лиганда – фторхинолона с последующей передачей энергии на энергетический уровень Ln(III). Определение с помощью методов хемилюминесцентного анализа требует несложной аппаратуры и отличается высокой чувствительностью.

Использование лантанидных ионов для пред- и постколоночного детектирования в капиллярном электрофорезе и ВЭЖХ впервые было предложено в работе [136]. Сочетание СЛ лантанидов с эффективными методами предварительного разделения позволяет повысить не только чувствительность, но и селективность определения [137]. В случае предколоночной дериватизации соль лантанида добавляется непосредственно в элюирующую фазу и происходит взаимодействие иона лантанида и органического лиганда перед разделением на колонке. Так как это взаимодействие, как правило, происходит при pH>7.0, возникает опасность появления осадков гидроксидов лантанидов, что может привести к загрязнению колонки. Поэтому постколоночный вариант дериватизации более широко используется, хотя требует дополнительного оборудования (второго насоса) для введения постколоночного реагента, содержащего ион лантанида.

В большинстве ВЭЖХ определений с помощью СЛ лантанидов используют обращеннофазовый вариант хроматографирова -
ния, который предполагает применение в качестве элюентов смесей вода-растворитель. Для минимизации тушащего влияния молекул воды используют соединения, способные вытеснять H_2O из координационной сферы ионов лантанидов, например, ТОФО в случае определения ципрофлоксацина [86], охратоксина А и цитринина при совместном присутствии [138], ПАВ в случае определения теофиллина [112] для улучшения межмолекулярной передачи энергии между донором (теофиллином) и акцептором (ионом тербия).

Для определения блеомицина A_2 и налидиксовой кислоты [79], оротовой кислоты [118, 119], глютатиона [139], стероидов [114, 140–142], салициловой кислоты [143], катехоламинов [34, 117], флумекуина [144] применяют сочетание СЛ с ВЭЖХ и капиллярным электрофорезом (КЭ), что перспективно для применения соответствующих методик анализа биожидкостей в клинических условиях.

Для повышения селективности определения салициловой кислоты и дифлунизала при совместном присутствии использовали производную спектрофлуориметрию [145].

В заключение этого подраздела можно констатировать, что люминесцентное определение БАС, в том числе лекарственных препаратов, с помощью ионов лантанидов возможно для таких органических соединений, которые способны выступать в качестве лигандов по отношению к ионам Ln(III) и сенсибилизировать 4*f*-люминесценцию центрального иона.

Высокочувствительные методики анализа, основанные на принципах СЛ лантанидов, нельзя отнести к прецизионным (S_r ≥0,04–0,10). Поэтому их наиболее эффективно применять для определения минорных компонентов дозированных лекарственных форм, контроля качества отмывки фармацевтического оборудования, анализа биожидкостей.

Определение нуклеиновых кислот

Флуоресцентный метод анализа наравне с методом радиоактивного мечения и спектрофотометрией часто используют для изучения химической структуры и физико–химических свойств нуклеиновых кислот (НК). Макромолекулы НК – носители генетической информации являются важной составной частью живого организма. Детальное изучение НК и их взаимодействия с малыми молекулами позволяет решать ряд вопросов медицинской химии, в частности, создания противовирусных лекарственных препаратов. Нуклеиновые кислоты обладают собственной люминесцен -
цией [146], но в связи с низкой интенсивностью её использование для изучения биологических свойств и высокочувствительного определения ДНК ограничено.

Для повышения чувствительности определения НК используют люминесцентные зонды: органические красители, металлокомплексные соединения, ионы лантанидов и их комплексные

© А.В. Егорова, Ю.В. Скрипинец, Д.И. Александрова, В.П. Антонович

соединения. Эти зонды при взаимодействии с нуклеиновыми кислотами изменяют свои флуоресцентные свойства, по сравнению с таковыми в свободной форме. В связанном состоянии интенсивность люминесценции зондов может быть больше или меньше, спектры возбуждения и люминесценции могут сдвигаться, а степень поляризации люминесценции обычно увеличивается. Все эти факторы могут быть учтены с высокой степенью точности и дают информацию относительно размеров и форм ДНК, а так же их взаимодействия друг с другом и с другими молекулами. В **табл.2** представлены наиболее широко применяемые люминесцентные зонды для определения ДНК.

В настоящее время рассматривают четыре типа взаимодействия люминесцентных зондов с молекулами ДНК: интеркаляционное, взаимодействие по желобу, электростатическое и образование ассоциатов на поверхности нуклеиновых кислот [147].

Органические красители.

Органические зонды, как правило, являются полициклическими ароматическими катионами с планарной структурой и способны встраиваться между парами оснований молекул ДНК, что увеличивает интенсивность люминесценции зонда. Такое увеличение сигнала позволяет количественно определять содержание ДНК в исследуемом растворе. Наиболее часто в качестве интеркаляторов ДНК используют органические красители: этидий бромид (ЭБ) [148], акридиновый оранжевый (АО) [149], акридиновый желтый (АЖ) [150].

Изучен интеркаляционный и электростатический механизмы взаимодействия органических красителей ЭБ и АО с молекулами ДНК [148, 149]. При интеркаляции молекулы органических красителей встраиваются между парами оснований ДНК, в результате чего наблюдается резкое увеличение квантового выхода люминесценции и батохромный сдвиг спектра возбуждения. Электростатическое взаимодей-ствие со спиральными молекулами полинуклеотидов происходит между катионом красителя и отрицательно заряженными фосфатными группами ДНК.

Тушение люминесценции ЭБ в системе ЭБ–ДНК в результате конкурирующего взаимодействия некоторых лекарственных веществ с молекулами ДНК (метод вытеснения ЭБ) широко используется для изучения противовирусной активности фармпрепаратов.

Высокочувствительное люминесцентное определение ДНК достигнуто путем взаимодействия: бисимидазольного красителя Hoechst 33258 с ДНК в присутствии катионного полиэлектролита диалилдиметил амоний хлорида (ПДДА) [151]; органического красителя – PicoGreen [152, 153], который позволяет понизить предел обнаружения ДНК в 400 раз по сравнению с Hoechst 33258, а также органических красителей – OliGreen [152, 153] и RiboGreen [153], тиазолового оранжевого (ТО) [154].

Димерные интеркаляторы представляют собой молекулы, содержащие в своем составе две интеркаляционные группы, обладающие большим аффинитетом к ДНК по сравнению с моноинтеркаляторами. Наиболее широко используются в лабораторной практике бисинтеркаляторы - димеры тиазолового оранжевого (ТОТО) и оксазолового желтого (YOYO) [155, 156], коньюгация которых с ДНК приводит к значительному увеличению квантового выхода. Данные красители обладают слабой люминесценцией в свободном состоянии и резко её увеличивают в результате присоединения к ДНК (в 1000 раз).

Предложен двойной органический зонд ЭБ-TaqMan для установления специфичности нуклеиновых кислот в гомогенных растворах с использованием полимеразной цепной реакции [157].

Эффект тушения флуоресценции наблюдается при взаимодействии ДНК с бриллиантовым крезоловым синим, нильским голубым, фосфином 3R [158–160].

Широкое применение для определения ДНК нашли некоторые лекарственные препараты, в частности, хинолоны, которые обладают антибактериальными свойствами и являются ингибиторами ДНК. Взаимодействие молекул ДНК с хинолонами и их комплексными соединениями с переходными металлами рассмотрены в работах [161, 162].

Металлокомплексные соединения

Наряду с органическими зондами широко применяются для определения ДНК комплексные соединения переходных металлов: соединения рутения с бипиридилом [163], кобальта с 5-(3-флуоро -4 - хлорфенилаза) – 8 – сульфонамид - хинолином (ФХФСХ) [164], цинка с кверцетином [165] и алюминия с 8-гидроксихинолином [166]. Также показана возможность применения для этих целей комплексных соединений лантана [167] и иттрия [168].

В качестве люминесцентных зондов для определения нуклеиновых кислот наиболее широкое применение нашли ионы Tb(III) [42, 169]. Однако детектирование ДНК с помощью ионов Tb(III) недостаточно чувствительно, поэтому в последние годы широко используют комплексные соединения лантанидов в качестве люминесцентных меток и зондов, общими требованиями к которым являются: высокий квантовый выход люминесценции, высокая кинетическая устойчивость комплексов, их растворимость в воде, получение оптимального аналитического сигнала при физиологическом значении pH.

В качестве лантанидных люминесцентных зондов применяют комплексные соединения Eu(III) с тетрациклином [170], окситетрациклином [171], бензоилацетоном [172] и 2-[(8-гидрокси-5-сульфо-7 - хинолин)азо] - 1,8 – дигидрокси - 3,6 - нафталин дисульфокислотой (ГХСК) [173]. Увеличение интенсивности люминесценции комплексов Eu(III) – ТС и Eu(III) – ОТс при добавлении ДНК, а также увеличение времени жизни в тройных системах Eu(III)-ТС-ДНК и Eu(III) – ОТс – ДНК объясняется взаимодействием ионов европия с фосфатными группами ДНК [170, 171].

Эффекты сенсибилизации и тушения люминесценции в присутствии ДНК характерны для комплексных соединений Tb(III) с 1, 10 - фенантролином [174], тироном [175], а так же с 1,6-бис (1′-фенил-3′-метил-5′-пиразолон-4′-) гександионом - (БФМПГД) в присутствии бромида цетилтриметиламмония (ЦТАБ) [176], норфлоксацином [177], эноксацином [178], дифлоксацином [179], производными 2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновой кислоты [180].

Для изучения гибридизации нуклеиновых кислот используют специфическую реакцию между меченым фрагментом ДНК или РНК и нуклеиновой кислотой с комплиментарной последовательностью. Данный анализ является полуколичественным и применяется для генетической диагностики при инфекционных и злокачественных заболеваниях, судебной идентификации. Возможность синтеза генов с определенной последовательностью нуклеоти-дов дает полимеразная цепная реакция, с помощью которой возможна идентификация нуклеиновых кислот для диагностических целей. Для изучения гибридизации ДНК и ПЦР применяют лантанидный иммунофлуоресцентный анализ с временным разрешением, в котором широко используют комплексы Eu(III) и Tb(III) [181, 182]

В заключение этого подраздела можно констатировать, что в настоящее время наравне с органическими зондами перспективным является использование СЛ комплексных соединений лантанидов для повышения чувствительности детектирования НК.

Лантанидный иммунофлуоресцентный анализ (ЛИФА)

В настоящее время лантанидная сенсибилизированная люминесценция широко используется для целей иммунофлуоресцентного анализа [183–186]. Существует несколько вариантов его проведения:

— метод DELFIA (диссоционно-усиленный лантанидный иммуно-флуоресцентный анализ), в котором проводят определение концентрации металла в избытке сенсибилизатора люминесценции;

— метод FIAGEN (флуоресцентный иммунный анализ с детектированием флуорогенного лиганда), в котором проводят определение концентрации сенсибилизатора люминесценции в присутствии избытка иона лантанида;

— метод EALL (ферментно-усиленная лантанидная люминесценция), в котором определяют концентрацию эквимолярного комплекса иона лантанида с сенсибилизатором люминесценции, образующимся в результате ферментативного гидролиза.

В качестве флуоресцентной метки в методе ЛИФА применяют ионы Eu(III), Sm(III), Tb(III), Dy(III) [187, 188], возбуждение флуоресценции анализируемого образца производят импульсно, а регистрацию флуоресцентного сигнала – с задержкой во времени, что позволяет элиминировать фоновое излучение и проводить временную дискриминацию флуоресцентного сигнала в микросекундном временном диапазоне.

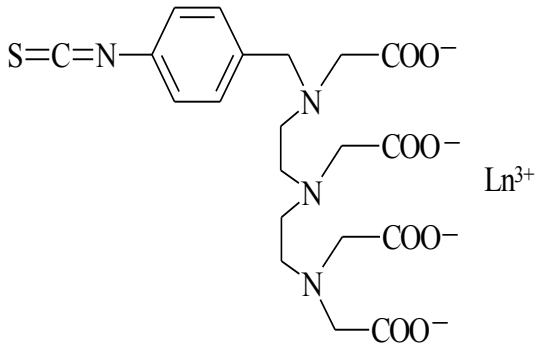
Использование разрешенной во времени люминесценции на несколько порядков повышает чувствительность иммунофлуоресцентного анализа [189, 190]. В остальном же ЛИФА сходен с другими методами иммуноанализа: в процессе анализа формируется иммобилизованный на твердой фазе иммунный комплекс, который затем детектируют по уровню флуоресценции индикаторных молекул. В качестве хелатирующих агентов используют соединения, обеспечивающие высокую термодинамическую стабильность комплексов, водорастворимость, эффективный перенос энергии на ионы лантанидов и наличие функциональной группы для ковалентного взаимодействия с иммунореактивным компонентом. Однако, очень трудно сочетать все эти требования в одной молекулярной структуре. Обычно люминесценция хелатов, которые термодинамически устойчивы при сильном разбавлении, очень низкая, тогда как интенсивно люминесцирующие хелаты малоустойчивы при сильном разбавлении.

Поэтому наиболее широкое распространение в методе ЛИФА получила разновидность DELFIA [191].

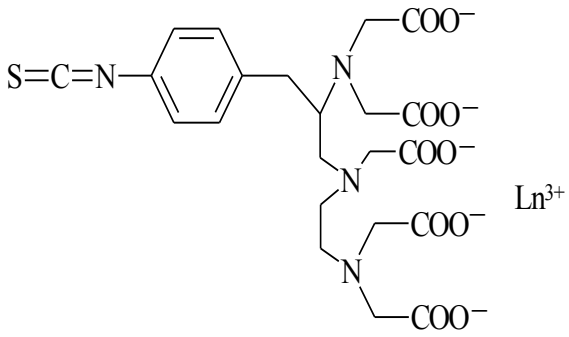
В данном методе лантанидная метка вводится в состав индикаторного антитела с помощью комплексонов, прочно связывающих с одной стороны ион Ln(III), а с другой, способных ковалентно присоединяться к молекулам иммуноглобулинов.

В качестве таких хелатирующих агентов для ковалентного мечения используют изотиацианатобензилы диэтилентриаминтетра-ацетата (1) и диэтилентриаминпентаацетата (2):

© А.В. Егорова, Ю.В. Скрипинец, Д.И. Александрова, В.П. Антонович



1



2

Таблица 1. *Определение лекарственных препаратов по сенсибилизированной люминесценци ионов Ln(III)*

Лекарственный препарат	Ион Ln	Метод	Условия эксперимента	Предел обнаружения	Объект анализа	Литература
1	2	3	4	5	6	7
Адреналин	Tb	СЛ	pH=12,0; изопропанол,	0,02 мкг/мл	-	[29]
Допамин, Эфедрин	Tb	СЛ; КЭ; Постколоночное детектирование (ПостКД)	pH=11,0; ЭДТА	$1{,}3\cdot10^{-7}$ моль/л $7{,}0\cdot10^{-8}$ моль/л	моча	[34]
Изадрин	Tb	СЛ	pH=8,7	0,001 мкг/мл	-	[116]
Норэпинефрин, Допамин	Tb	СЛ; ВЭЖХ; ПостКД	pH=7,4; ЭДТА; MeOH – буферный раствор (БР) (15:85)	$1\cdot10^{-8}$ моль/л $7\cdot10^{-8}$ моль/л	моча	[117]
Налидиксовая кислота	Tb	СЛ	pH=7,0;	0,01 мкг/мл	-	[78]
Налидиксовая кислота Блеомицин A_2	Tb	СЛ; ВЭЖХ; ПостКД	pH=6,8; Ацетонитрил (AcN)–БР	$4\cdot10^{-7}$ моль/л $3{,}0\cdot10^{-6}$ моль/л	-	[79]
Пипемидиевая кислота	Eu	СЛ	pH=7,0; этанол (95% об/об)	0.1 мкг/мл	моча	[85]
Ципрофлоксацин	Tb	СЛ; ВЭЖХ; ПостКД	pH=6,0; ТОФО; MeOH – вода (50 : 50)	$1\cdot10^{-7}$ моль/л	сыворотка крови	[86]
Эноксацин	Eu	СЛ	pH=7,0; Додецилсульфат натрия (ДДС)	$1\cdot10^{-9}$ моль/л	-	[83]
Энрофлоксацин	Tb	СЛ	pH=7,4; ДДС	3,5 мкг/кг	мясо цыплят	[77]
Пефлоксацин	Tb	СЛ	pH=5,5; ЦТАХ; ТОФО	$4{,}4\cdot10^{-9}$ моль/л	сыворотка крови	[84]
Ломефлоксацин	Tb	СЛ	pH=6,5–8,5	$6\cdot10^{-9}$ моль/л	сыворотка крови	[75]
Спарфлоксацин	Tb	СЛ	pH=5,5	$3\cdot10^{-9}$ моль/л	моча	[88]
Норфлоксацин, Ципрофлоксацин	Tb	Твердофазная СЛ	pH=6,5; сорбция на цеолите CaA	1 мкг/мл 1 мкг/мл	плазма крови	[68]
Норфлоксацин	Tb	СЛ, Кинетический метод (КМ)	pH=7,8; ЭДТА	0,13 мкг/мл	сыворотка крови	[80
Норфлоксацин	Tb	СЛ	pH=7,6; ДДС	$1{,}2\cdot10^{-9}$ моль/л	Фармпрепарат	[82]
Норфлоксацин	Tb	СЛ	pH=5,6; ЭДТА	1,5 нг/мл	моча	[81]
Флумекуин	Tb	СЛ; ВЭЖХ; ПостКД	pH=6,7; AcN – БР (30:70)	0.18 нг/мл	молоко	[144]

п-аминосалицило-вая к-та	Tb	СЛ	pH=8,0; ЭДТА	$2{,}0\cdot10^{-8}$ моль/л	сыворотка крови	[69]
п-аминобензойная к-та	Tb	СЛ; КМ	pH=6,5; ТОФО; Тритон Х-100	0,02 мкг/мл	фармпрепарат	[70]
Фуросемид, Толфенамовая к-та, Мефенамовая к-та	Tb	СЛ	pH=9,0; ЭДТА; ТОФО; МеОН	$6{,}0\cdot10^{-9}$ моль/л $1{,}4\cdot10^{-8}$ моль/л $9{,}0\cdot10^{-9}$ моль/л	сыворотка крови	[74]
Фуросемид	Tb	СЛ	pH=7,5; этанол	0,05 мкг/мл	фармпрепарат	[32]
Мефенамовая к-та	Tb	СЛ	pH=7,4; ТОФО	0,25 нг/мл	фармпрепарат	[21]
Дифлунизал	Tb	вторая производная СЛ	pH=12,6; ЭДТА	1,8 мкг/мл 0,9 мкг/мл	моча сыворотка крови	[145]
Дифлунизал	Tb	СЛ	pH=12,5; ЭДТА	2,4мкг/мл	моча	[36]
Дифлунизал	Tb	СЛ; КМ	pH=8,0; ЭДТА; ЦТАБ	0,038 мкг/мл	сыворотка крови	[72]
Ибупрофен, Диклофенак натрия	Tb	СЛ	pH=7,2; Фен; 2,2′-дипиридил	2 мкг/мл 0,05 мкг/мл	фармпрепарат	[23]
Салициловая кислота	Tb	СЛ	pH=11,5; ЭДТА; ЦТАХ	$2{,}0\cdot10^{-10}$ моль/л	-	[39]
Салициловая кислота	Tb	СЛ; КЭ	pH=9,0; ЭДТА	$1{,}0\cdot10^{-7}$ моль/л	сыворотка крови	[143]
Нифлумовая кислота	Tb	СЛ	pH=7,5; ТОФО	0,001 мкг/мл	моча	[71]
Тиапрофеновая кислота	Eu	СЛ	pH=6,5; ТОФО	0,005 мкг/мл	моча	[73]
Тетрациклин	Eu	СЛ	pH=8,0; ДДС; Фен	$2{,}97\cdot10^{-7}$ моль/л	плазма крови	[94]
Тетрациклин	Eu	СЛ; ВЭЖХ; ПостКД	pH=9,0; ЭДТА мицеллярная среда	0,1 мкг/мл	сыворотка крови	[95]
Метациклин	Eu	СЛ	pH=9,6; лизосим	$1{,}8\cdot10^{-8}$ моль/л	моча	[101]
Метациклин	Eu	СЛ	pH=6,1; H_2O_2	2,5 мкг/мл 25 мкг/мл	плазма крови моча	[100]
Окситетрациклин	Eu	СЛ	pH=9,0; ЭДТА	3,0 нг/г	филе тунца	[97]
Окситетрациклин	Eu	СЛ	pH=7,2; цитрат-ион	0,2 мкг/мл	плазма крови	[98]
Окситетрациклин	Eu	СЛ	pH=7,4; цитрат-ион	5 нг/мл	молоко	[64]
Окситетрациклин	Eu	СЛ	pH=6,1; β-цикло - декстрин	$6{,}76\cdot10^{-9}$ моль/л	сыворотка крови	[96]
Окситетрациклин Доксициклин	Eu	СЛ	pH=8,0; ЭДТА; Тритон Х-100	$2{,}5\cdot10^{-10}$ моль/л $2{,}0\cdot10^{-9}$ моль/л	сыворотка крови	[37]
Демеклоциклин	Eu	СЛ	pH=8,5; ЭДТА	0,002 мкг/мл	сыворотка крови	[102]
Хлортетрациклин	Eu	СЛ	pH=9,0; ТОФО; ДДС	$6{,}0\cdot10^{-9}$ моль/л		[19]
Хлортетрациклин	Eu	Твердофазная СЛ	ЭДТА, цитрат-ион, ЦТАХ, сорбент – картридж для ВЭЖХ	19 нг/г	куриное мясо	[103]
Доксициклин	Eu	СЛ	pH=9,0	$7{,}0\cdot10^{-9}$ моль/л	-	[93]

© А.В. Егорова, Ю.В. Скрипинец, Д.И. Александрова, В.П. Антонович

Тетрациклин, Доксициклин	Eu	СЛ; КМ	pH=7,4; ТТА; Тритон Х-100	2,0 мкг/мл 2,0 мкг/мл	сыворотка крови	[104]
Ампициллин Тетрациклин	Eu	СЛ; КМ	pH=7,4; ТТА; Тритон Х-100	0,04 мкг/мл 0,125 мкг/мл	молоко	[110]
Ципрофлоксацин Тетрациклин	Tb Eu	СЛ; КМ	pH=7,3; ЦТАБ	9 нг/мл 11 нг/мл	сыворотка крови	[92]
Цефтриаксон	Tb	СЛ (тушение)	pH=8,0	$5{,}09\cdot10^{-7}$ моль/л	фармпрепарат	[106]
Цефтриаксон	Eu	СЛ	pH=6,0, ЦТАХ	50 мкг/мл	плазма крови	[107]
Гентамицин Стрептомицин	Eu	СЛ	pH=5,5	0,01 мг/мл 0,005 мг/мл	фармпрепарат	[108]
Теофиллин	Tb	СЛ; ВЭЖХ; Предколоночное детектирование (ПредКД)	Подвижная фаза: Этилацетонат гексан(60:40)	9 нг/мл	фармпрепарат	[112]
Теофиллин	Eu	СЛ	pH=7,5	2 мкг/мл	-	[111]
Сальбутамол	Eu	СЛ	pH=9,5; ТОФО	2,31 мкг/мл	фармпрепарат	[20]
Ортовая кислота	Tb	СЛ	pH=7,0; ДМСО	5,0·10-6 моль/л	-	[31]
Ортовая кислота	Tb	СЛ	pH=7,5; Бридж - 35	1,8·10-9 моль/л	-	[38]
Ортовая кислота	Tb	СЛ; ВЭЖХ; ПостКД	pH=8,0; ТБАБ AcN – вода (7.5:92.5)	1,0·10-8 моль/л	моча	[118]
Ортовая кислота	Tb	СЛ; КЭ; ПредКД	pH=6,0; ЦТАБ	6,0·10-7 моль/л	моча	[119]
Бромадиолон	Tb	СЛ; КМ	pH=6,5; Тритон Х-100	0,3 мкг/мл	-	[124]
Лазолацид	Tb	СЛ; КМ	pH=6,5;ТОФОТритон Х-100	1 нг/мл	питьевая вода	[125]
Дифацинон	Sm	СЛ	pH=6,5;ТОФОТритон Х-100	1,0·10-7 моль/л	сыворотка крови	[126]
Тироксин	Eu	СЛ (тушение)	pH=6,5; ПДК	15,5 мкг/мл	-	[123]
Глюкоза	Dy	СЛ	pH=7,0	7,0·10-6 моль/л	-	[67]
Зидовудин	Eu	СЛ	pH=7,5; ТТА;77ºК	-	-	[122]
Глютатион	Tb	СЛ; ВЭЖХ; ПредКД	pH=7,0; AcN – БР (40:60)	2,0·10-8 моль/л	моча	[139]
Прогестерон Тестостерон	Tb	СЛ; ВЭЖХ; ПредКД	pH=7,4; ДДС; AcN – БР (12:88)	0,07 мкг/мл 0,2 мкг/мл	-	[140]
Прогестерон Тестостерон	Tb	СЛ; ВЭЖХ; ПредКД	pH=7,4; AcN – вода (20:80)	200 пг/мл 300 пг/мл	моча	[114]
Прогестерон Тестостерон	Tb	СЛ; КЭ; ПредКД	pH=7,0; ДДС.	1,0·10-4 моль/л 8,0·10-5 моль/л	-	[141]
Прогестерон	Tb	СЛ; ВЭЖХ; ПредКД	pH=7,0; AcN – вода (80:20)	2,5·10-6 моль/л	-	[142]
Цитринин Охратоксин А	Tb	СЛ; ВЭЖХ; ПостКД	pH=5,5; ТОФО; MeOH – вода (70:30)	2,0·10-6 моль/л 3,0·10-6 моль/л	сыр	[138]

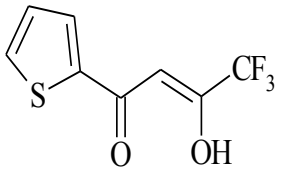
Таблица 2. *Пределы обнаружения нуклеиновых кислот с использованием флуоресцентных зондов*

Флуоресцентные зонды	Нуклеиновая кислота	Предел обнаружения (нг/мл)	Литература
Этидий бромид	ДНК	10	[148]
PicoGreen	ДНК	0,025	[152, 153]
OliGreen	ДНК	0,1	[152, 145]
RiboGreen	РНК	1	[145]
Бриллиантовый крезоловый синий	ДНК / РНК	7 / 25	[158]
Нильский голубой	ДНК / РНК	3 / 27	[159]
Фосфин 3R	ДНК / РНК	6 / 13	[160]
YOYO, TOTO	ДНК	0.5	[155, 156]
Акридиновый оранжевый	ДНК	23	[149]
Акридиновий желтый	ДНК	0.023	[150]
Hoechst 33258 Hoechst 33258 (ПДДА)	ДНК ДНК	10 5	[151]
La(III)-8-гидроксихинолин	ДНК /РНК	68 / 329	[167]
Al(III)-8-гидроксихинолин	ДНК / РНК	13 / 130	[166]
Y(III)-БФМПГД-ЦТАБ	ДНК / РНК	14 / 21	[168]
Ru(II)-дипиридил	ДНК	4.4	[163]
Co(II)-ФХФСХ	ДНК / РНК	10/ 20	[164]
Zn(II)-кверцетин	ДНК	500	[165]
Tb(III)	РНК	100	[169]
Tb(III)-1,10 фенантролин	ДНК / РНК	100 / 200	[174]
Tb(III)-БФМПГД-ЦТАБ	ДНК / РНК	9 / 5	[176]
Eu(III)-тетрациклин	ДНК	10 / 3	[170]
Eu(III)-окситетрациклин	ДНК	11	[171]
Tb(III)-Тирон	ДНК / РНК	1 / 0.6	[175]
Eu(III)-бензоилацетон ЦТАБ	ДНК / РНК	0,33 / 0.99	[172]
Eu(III)-ГХСК	ДНК	12,3	[173]

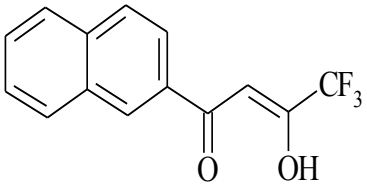
Для количественного определения вошедших в состав иммунных комплексов индикаторных иммуноглобулинов (эта величина обычно пропорциональна количеству содержащегося в пробе иона Ln) используют так называемый усиливающий (проявляющий) раствор, позволяющий сенсибилизировать люминесценцию Ln(III) после разрушения иммунного комплекса.

В качестве сенсибилизирующих лигандов наиболее широко применяют теноилтрифторацетон (3), нафтоилтрифторацетон (4), 2,4,6-триметоксифенилдипиколиновую кислоту (5), хлорсульфофенилтрифторацетон, которые образуют устойчивые и интенсивно люминесцирующие комплексы с ионами Eu(III) [192, 193]:

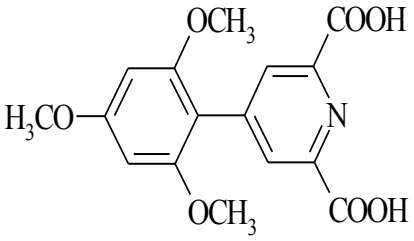
© А.В. Егорова, Ю.В. Скрипинец, Д.И. Александрова, В.П. Антонович



3



4



5

В качестве проявляющих растворов описаны хелаты тербия с производными хинолонокарбоновой кислоты [194, 195], 4-аминосалициловой кислоты [196] и N,N,N^1,N^1-[2,6-бис(3′-аминометил-1-пиразолил)-4-фенилпиридин] тетраацетат [197].

Предложены методы с использованием лантанидных меток для определения иммуноглобулинов, белков, гормонов и антигенов [196, 198–203].

Для индикации комплекса антиген-антитело в методе ЛИФА в качестве меток используют комплексные соединения лантанидов с производными этилендиаминтетрауксусной (ЭДТА) и диэтилентриаминпентауксусной (ДТПА) кислот. Данные комплексы характеризуются высокой стабильностью и хорошей растворимостью в воде, но слабо люминесцируют при связывании с белками.

Поэтому при постановке ЛИФА их необходимо перевести в раствор и поместить в среду, активирующую люминесценцию, т. е. в усиливающий раствор. В состав последнего входит: буфер с низким значением pH, комплексообразующий сенсибилизатор, синергический агент, детергент. Использование усиливающих растворов различного состава при постановке ЛИФА рассмотрено в работах [196, 198, 200].

Более перспективным в ЛИФА является метод многократного мечения, который позволяет одновременно определять несколько антигенов в одной пробе с помощью разных лантанидов.

Это оказывается возможным благодаря наличию узких полос в спектрах люминесценции ионов Eu(III), Sm(III), Tb(III) и Dy(III) с разными длинами волн и существенными различиями во временах жизни люминесценции этих лантанидов [204–207]. Наиболее широко используемые лантанидные метки в методе DELFIA представлены в табл. 3.

В методе FIAGEN определяют концентрацию сенсибилизатора люминесценции.

В этом методе не требуется стадия отмывки и использование усиливающих растворов, так как за счет одного лиганда осуществляется взаимодействие с ионом лантанида, для которого характерна высокая $I_{люм}$, и ковалентное присоединение хелата к белку [208–216] (табл. 4).

Таблица 3. *Лантанидные метки в иммунофлуоресцентном анализе (метод DELFIA)*

Определяемый объект	Метка	Условия эксперимента	Предел обнаружения	Литература
Иммуноглобулин G	Tb(III) – ДТПА	*п*-аминосалициловая кислота (*п*-АСК) фосфатный буфер (pH=7.0)	0,625 пмоль/л	[196]
Бычий сывороточный альбумин	Tb(III) – ДТПА	*п*-АС, фосфатный буфер (pH=7.0)	1 нг/мл	[199]
Иммуноглобулин G	Изотиоцианатфенил - Eu(III) – ЭДТА	Проявляющий раствор DELFIA (Трис – буфер, НТА, Тритон Х – 100, ТОФО)	25 пг/мл	[198]
α-фетопротеин	Eu(III) – хелат	Тритон Х – 100, ТТА, ТОФО фосфатный буфер (pH=7.0)	0,04 пг/мл	[200]
Тироидный стимулирующий гормон	Eu(III) – ДТПА	-	0,0012 мIU/л	[201]
Металлотионин	Eu(III) – ДТПА	-	0,05 мкг/мл	[202]
Простогландин Д	Eu(III) – ДТПА	-	0,05 мкг/л	[203]
Миоглобин Креатинкиназа	Eu(III) – хелат Tb(III) – хелат	-	0,1 нг/мл 2,4 нг/мл	[205]
Цистеинпротеаза 1 Цистеинпротеаза 3 Цистеинпротеаза 6	Eu(III)-хелат Sm(III)-хелат Tb(III) -хелат	-	0,02 нмоль/л 0,2 нмоль/л 0,1 нмоль/л	[204]
α - фетопротеин Гонадотропин	Eu(III) – ДТПА Sm(III) – ДТПА	-	0,025 мкг/мл 0,2 мкг/мл	[206]

Тироидстимулирующий гормон Трипсин Гидроксипрогестерон Креатинкиназа	Eu(III) – ЭДТА Sm(III) – ЭДТА Tb(III) – ЭДТА Dy(III) – ЭДТА	ПТА, Y(III), Твин - 20, Трис - буфер	0,1 мкг/мл 0,2 мкг/мл 2,0 мкг/мл 4,0 мкг/мл	[207]

Таблица 4. *Европиевые метки в иммунофлуоресцентном анализе (метод FIAGEN)*

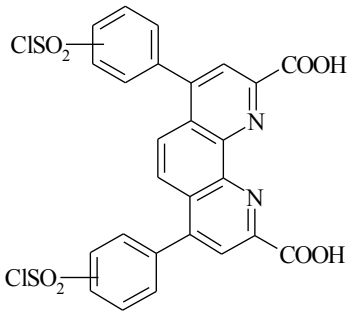
Определяемый объект	Метка	Условия эксперимента	Предел обнаружения	Литература
α-фетопротеин	Eu(III)-BHHCT	Трис-буфер (pH=7,8)	$4{,}1\cdot10^{-3}$ пг/мл	[208]
Ферритин	Eu(III)-BCPDA	Трис-буфер (pH=7,8)	0,5 мкг/ мл	[209]
Хорионический ганадотропин (hCG)	Eu(III)- BCPDA	Трис-буфер (pH=7,8), Твин-20	0,7 IU/мл	[210]
17β-эстрадиол	Eu(III)-BHHCT	Трис-буфер (pH=7,8)	32,0 пг/мл	[211]
Коллаген (тип IV)	Eu(III)-BHHCT	Трис-буфер (pH=7,8)	100,0 пг/мл	[212]
Тироидстимулирующий гормон	Eu(III)-BTBCT	Трис-буфер (pH=7,8)	0,011 мIU/л	[213]
Андроген	Eu(III)-BCPDA	Трис-буфер (pH=7,8)	1,0 мкг/мл	[214]
Антиген вируса гепатита В	Eu(III)-BHHCT	Трис-буфер (pH=7,8), Тритон Х-100	84,0 пг/мл	[215]
Тироксин (Т4)	Eu(III)-BCOT	Трис-буфер (pH=7,8)	$1{,}07\cdot10^{-12}$ моль/л	[216]

Наиболее широко в методе FIAGEN применяют 4,7-бис (хлоросульфофенил)-1,10-фенантролин-2,9 дикарбоновую кислоту (BCPDA – (**6**)) [217];

4,4′-бис(1″; 1″; 1″-трифтор-2″; 4″-бутандион-6″-ил)-хлорсульфо-о-терфенил (BTBCT) [213];

4,4′-бис(1″,1″,1″,2″,2″,3″,3″-гептафтор-4″,6″-гексадион-6″-ил) хлорсульфо-о-терфенил (BHHCT) [211, 212];

1,10-бис(8'-хлорсульфо-дибензотиофен-2'-ил)-4,4,5,5,6,6,7,7,-октафтордекан-l,3,8,10-тетраон (BCOT) [216].



6

Преимуществом метода FIAGEN является несомненная простота по сравнению с методом DELFIA. К недостаткам можно отнести более низкую чувствительность детекции метки и невозможность многократного мечения.

В методе EALL в качестве метки применяют ферменты, например, щелочную фосфатазу (ЩФ) [218], с последующим детектированием продукта, который образуется в результате ферментативного расщепления субстрата по люминесценции его комплекса с ионом лантанида.

В качестве субстратов нашли применение: салицилфосфат [218], фторосалицилфосфат [219, 220] и дифлунизалфосфат [35, 221, 222].

Предложены высокочувствительные методики определения α-фетопротеина [35], тиротропина [219], креатинкиназы [221], интерлейкина 6 [222] в сыворотке крови (табл. 5).

В последние годы используют пероксидазу, для определения которой, в качестве субстрата, предложена *п*-гидроксифенилпропионовая кислота (ГФПК) [41].

В результате каталитической реакции (в присутствии пероксида водорода и пероксидазы) образуется – -[5′-(2-карбоксиэтил)-6,2′-дигидроксибифенил-3-ил]-пропионовая кислота (ДГФПК), являющаяся сенсибилизатором ионов Tb(III).

Ферментные метки обладают высокой специфичностью и в случае EALL высокой чувствительностью. К недостаткам данного метода можно отнести длительность анализа, высокую стоимость.

В последнее время при создании лекарственных препаратов сенсибилизированная люминесценция лантанидов широко используется для изучения взаимодействия лигандов с рецепторами [223].

© А.В. Егорова, Ю.В. Скрипинец, Д.И. Александрова, В.П. Антонович

Например, в случае изучения взаимодействия фармпрепаратов с бездиазепиновыми рецепторами использовали люминесценцию европия в комплексе с производным циклена [224].

Таблица 5. *Лантанидные метки в иммунофлуоресцентном анализе (метод EALL)*

Определяемый объект	Ферментная метка	Детектируемый хелат	Условия эксперимента (субстрат)	Предел обнаружения	Литература
ЩФ	ЩФ	Салицилат - Tb(III) - ЭДТА	Салицилфосфат	0,2 амоль/л	[218]
α-фетопротеин	ЩФ	Дифлунизал - Tb(III) - ЭДТА	Дифлунизалфосфат	5 пг/мл	[35]
Креатинкиназа	ЩФ	Дифлунизал - Tb(III) ЭДТА	Дифлунизалфосфат	1,0 мкг/л	[221]
Антитела к α-фетопротеину	ЩФ	Фторсалицилат - Tb(III) - ЭДТА	5 - фторсалицилфосфат	0,15 пг/мл	[220]
Тиротропин	ЩФ	Фторсалицилат - Tb(III) - ЭДТА	5 - фторсалицилфосфат	0,003 мIU/л	[219]
Интерлейкин 6	ЩФ	Дифлунизал - Tb(III) - ЭДТА	Дифлунизалфосфат	0,5 нг/л	[222]
Пероксидаза	Пероксидаза	ДГФПК - Tb(III) - ЭДТА	ГФПК	$2 \cdot 10^{-12}$ моль/л	[223]

ЛИТЕРАТУРА

1. Elbanowski M., Makowska B. The lanthanides as luminescent probes in investigations of biochemical systems //J. Photochem. Photobiol. A: Chem. – 1996. – Vol. 99. – P. 85–92.

2. Dickson E., Pollak A., Diamandis E. Ultrasensitive bioanalytical assays using time-resolved fluorescence detection // Pharmac. Ther. 1995. –Vol. 66. – P. 207–235.

3. Evans C.H.. Biochemistry of the lanthanides, Plenum, New York, London, 1990.

4. Bunzli J.-C. G. Lanthanide Luminescence for Biomedical Analyses and Imaging // Chem. Rev. – 2010. – Vol. 110. – P. 2729–2755.

5. Dickson E., Pollak A., Diamandis E. Ultrasensitive bioanalytical assays using time-resolved fluorescence detection // Pharmac. Ther. 1995. – Vol. 66 – P. 207–235.

6. Motson G., Fleming J., Brooker S. Potential applications for the use of lanthanide complexes as luminescent biolabels // Advan. Inorg. Chem. – 2004. – Vol. 55. – P. 361–431.

7. Полуэктов Н.С., Кононенко Л.И., Ефрюшина Н.П., Бельтюкова С.В. Спектрофотометрические и люминесцентные методы определения лантаноидов. – К.: Наукова Думка, 1989. – 254 с.

8. Полуэктов Н.С., Дробязко В.Н., Мешкова С.Б., Бельтюкова С.В., Кононенко Л.И. Изменение соотношения интенсивностей полос спектров люминесценции ионов Eu^{3+}, Sm^{3+}, Tb^{3+} и Dy^{3+} в комплексах в зависимости от числа координированных лигандов // Докл. АН СССР. Физ. хим. – 1975. – Т. 224, № 1. – С. 150–152.

9. Lis S. Luminescence spectroscopy of lanthanide (III) ions in solution // J. Alloys Compounds. – 2002. – Vol. 341. – P. 45–50.

10. Золин В.Ф., Коренева Л.Г. Редкоземельный зонд в химии и биологии. М.: Наука, 1980. – 348 с.

11. Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. М.: Наука,1980.–320 с.

12. Richardson F. Terbium(III) and europium(III) ions as luminescent probes and stains for biomolecular systems // Chem. Rev. – 1982. – Vol. 82. – P. 541–552.

13. Harrocks W., Sudnick D. Lanthanide ion probes of structure in biology. Laser-induced luminescence decay constants provide a direct measure of the number of metal-coordinated water molecules // J. Am. Chem. Soc. – 1979. – Vol. 123. – P. 7067–7073.

14. Weissman S. Intramolecular energy transfer the fluorescence of complexes of europium // J. Phys. Chem. – 1942. – Vol. 10. – P. 214–217.

15. Lis S., Elbanowski M., Makowska B., Hnatejko Z. Energy transfer in solution of lanthanide complexes // J. Photochem. Photobiol.A:Chem.–2002. – Vol.150.– P.233–247.

16. Rieutord A., Prognon P., Brion F., Mahuzier G. Liquid chromatographid determination using lanthanides as time - resolved luminescence probes for drugs and xenobiotics: advantages and limitations // Analyst. – 1997. – Vol. 122. - P. 59 R - 66 R.

17. Яцимирский К.Б., Костромина Н.А., Шека З.А., Давиденко Н.К., Крисс Е.Е., Ермоленко В.И. Химия комплексных соединений редкоземельных элементов. – К. – 1966. – 493 С.

18. Arnaud N., Georges J. Comprehensive study of the luminescent properties and lifetimes of Eu^{3+} and Tb^{3+} chelated with various ligands in aqueous solutions: influence of the synergic agent, the surfactant and the energy level of the ligand triplet // Spectrochim. Acta Part A. – 2003. - Vol. 59. – P. 1829–1840.

19. Yang J., Tong C., Jie N., Wu X., Zhang G., Ye H. Study on the fluorescence system of chlortetracycline – Eu – TOPO – sodium dodecyl sulfonate and the determination of chlortetracycline // J. Pharm. Biomed. Anal. – 1997. – Vol. 15. – P. 1833–1838.

20. Oliva M., Olsina R., Masi A. Sensitive detection of salbutamol using europium-enhanced fluorescence with trioctylphosphine oxide (TOPO) as coligand // Analyst. – 2005. – Vol. 130. – P. 1312–1317.

21. Бельтюкова С.В., Єгорова А.В., Теслюк О.І. Кількісне визначення мефенамінової кислоти люмінесцентним методом // Фарм. журн. 1999. - № 4. - С.68–71.

22. Yan B., Zhang H., Wang S., Ni J. Intramolecular energy transfer mechanism between ligands in ternary rare earth complexes with aromatic acids and 1,10-phenantroline // J. Photochem. Photobiol. A.: Chem. - 1998. - № 116. - P. 209–212.

23. Теслюк О.И., Бельтюкова С.В., Егорова А.В., Ягодкин Б.Н. Комплексные соединения тербия(III) с некоторыми нестероидными противовоспалительными препаратами и их аналитическое применение // Журн. аналит. химии. – 2007. – Т. 62, № 4. – С. 369–375.

24. А.С. 1352354 СССР. А.1. - №31/00./ Способ количественного определения цинхофена./ Бельтюкова С.В., Точидловская Т.Л., Полуэктов Н.С. – Заявл. 03.03.86; Опубл. 15.11.87, Бюл. № 42. – 2с.

25. Егорова А.В., Бельтюкова С.В., Теслюк О.И. Использование f-f люминесценции ионов Eu(III) и Tb(III) в анализе лекарственных препаратов // Укр. хим. журн. - 2000. - Т.66, №10. - С. 115–121.

26. Топилова З.М., Мешкова С.Б., Лозинский М.О., Большой Д.В. Влияние растворителей на соотношение интенсивностей полос в спектрах люминесценции комплексов самария (III) и европия (III) с фторсодержащими β-дикетонами // Коорд. химия. –1998. – Т. 24, № 8. – С. 627–631.

27. Tanaka F., Kawasaki Y. Preferential solvation of the europium(III) ion in water-non-aqueous solvent mixtures. A luminescence lifetime study // J. Chem. Soc. Faraday Trans. Pt. I – 1988. – Vol. 84, № 4. – P. 1083–1090.

28. Мешкова С.Б., Русакова Н.В., Большой Д.В. Влияние сольватирующей способности растворителей на интенсивность люминесценции трехвалентных ионов неодима и иттербия // Укр. хим. журн. –1992. – Т. 58, № 5. – С. 364–369.

29. Кравченко Т.Б., Бельтюкова С.В., Кононенко Л.И., Полуэктов Н.С. Люминесцентные свойства комплексов тербия с катехоламинами и использование их в анализе // Укр. хим. журн. - 1982. - Т.48, №1. - С. 68–76.

30. А.С. 1247727 СССР. А.1.- №21/64. Способ определения фенилсалицилата./ Бельтюкова С.В., Полуэктов Н.С., Грицай Т.Л., Кравченко Т.Б. – Заявл. 02.01.85; Опубл.01.04.86, Бюл.№ 28. - 2с.

31. Кравченко Т.Б., Бельтюкова С.В., Грицай Т.Л. Люминесцентные свойства оротата тербия и использование его в анализе // Укр. хим. журн. - 1982. - Т.48, №9. - С. 972–975.

32. А.С. 1603258 СССР. А.1. - №21/64. Способ количественного определения фуросемида. / Кравченко Т.Б., Бельтюкова С.В., Целик Е.И./ Заявл. 12.12.84; Опубл. 30.10.90, Бюл.№ 40. – 2с.

33. Arnaud N., Georges J. Influence of pH, surfactant and synergic agent on the luminescent properties of terbium chelated with benzoic acid derivatives in aqueous solutions // Analyst. – 2000. – Vol. 125, № 8. – P. 1487–1490.

34. Zhu R., Kok W. Determination of catecholamines and related compounds by capillary electrophoresis with postcolumn terbium complexation and sensitized luminescence detection // Anal. Chem. – 1997. – Vol. 69. - P. 4010–4016.

35. Veiopoulou C., Lianidou E., Ioannou P., Efstatiou C. Comparative study of fluorescent ternary terbium complex. Application in enzyme amplified fluorimetric immuonoassay for α-fetoprotein // Anal. Chim. Acta. – 1996. – Vol. 335. – P. 177–184.

36. Ioannou E., Lianidou E., Konstantianos D. Simple, rapid and sensitive spectrofluorimetric determination of diflunisal in serum and urine based on its ternary complex with terbium and EDTA // Anal. Chim. Acta. – 1995. – Vol. 300. – P. 237–241.

37. Arnaud N., Georges J. Sensitive detection of tetracyclines using europium-sensitized fluorescence with EDTA as co-ligand and cetyltrimethylammonium chloride as surfactant // Analyst. - 2001. - Vol. 126. - P. 694–697.

38. Arnaud N., Georges J. Effect of surfactants in the determination of orotic acid in aqueous solutions by sensitized terbium fluorescence // Analyst. – 1994. – Vol. 119. – P. 2453–2456.

39. Arnaud N., Georges J. Improved detection of salicylic acids using terbium-sensitized luminescence in aqueous micellar solutions of cetyltrimethylammonium chloride // Analyst. – 1999. – Vol. 124, № 7. – P. 1075–1078

40. Гришаева Т. Методы люминесцентного анализа. – Санкт – Петербург: НПО «Профессионал», 2003. – 225 С.

41. Meyer J., Karst U. Peroxidase enhanced lanthanide luminescence - a newtechnique for the evaluation of bioassays // Analyst. – 2000. – Vol. 125. – P. 1537–1538.

42. Lin C., Yang J., Wu X., Zhang G., Liu R., Cao X., Han R. Enhanced fluorescence of the terbium–gadolinium–nucleic acids system and the determination of nucleic acids // Anal. Chim. Acta. – 2000. – Vol. 403. – P. 219–224.

© А.В. Егорова, Ю.В. Скрипинец, Д.И. Александрова, В.П. Антонович

43. Xu Y., Hemmilä I. Co-fluorescence enhancement system based on pivaloyltrifluoroacetone and yttrium for the simultaneous detection of europium, terbium, samarium and dysprosium // Anal. Chim. Acta. – 1992. – Vol. 256. – P. 9–16.

44. Goèmez-Hens A., Aguilar-Caballos M. Terbium-sensitized luminescence: a selective and versatile analytical approach// Trends Anal. Chem. – 2002. – Vol. 21, № 2. – P. 131–141.

45. Georges J. Lanthanide-sensitized luminescence and application to the determination of organic analytes // Analyst. – 1993. – Vol. 118. – P. 1481–1486.

46. Yuan J., Matsumoto K. Synthesis of a new tetradentate β-diketonate-europium chelate and its application for time-resolved fluorimetry of albumin // J. Pharm. Biomed. Anal. – 1997. – Vol. 15. – P. 1397–1403.

47. Jiang C., Luo L. Spectrofluorimetric determination of human serum albumin using a doxycycline - europium probe // Anal. Chim. Acta. – 2004. – Vol. 506. – P. 171–175.

48. Goicoechea H., Roy B., Santosa M., Campiglia A., Mallik S. Evaluation of two lanthanide complexes for qualitative and quantitative analysis of target proteins via partial least squares analysis // Anal. Biochem. – 2005. – Vol. 336. – P. 64–74.

49. Hamblin J., Abboyi N., Lowe M. A binaphthyl-containing Eu(III) complex and its interaction with human serum albumin: a luminescence study // Chem. Commun. – 2005. – P.659–657.

50. Wang D., Zhao Y., Xu J., Guo X. Sensitive determination of nucleotides and polynucleotides based on the fluorescence quenching of the Tb^{3+} - Tiron complex // Fres. J. Anal Chem. – 1997. – Vol. 358. – P. 514–518.

51. Yu F., Li L., Chen F. Determination of adenosine disodium triphosphate using prulifloxacin–terbium(III) as a fluorescence probe by spectrofluorimetry // Anal. Chim. Acta. – 2008. – Vol. 610. – P. 257–262.

52. Cha K., Park C., Park K. Determination of glycine based on fluorimetric enhancement of Eu(III) - TTA complex // Bull. Korean Chem. Soc. – 2002. – Vol. 23, №. 4. – P. 623–625.

53. Бельтюкова С.В., Полуэктов Н.С., Кононенко Л.И., Кравченко Т. Б. Люминесценция соединений тербия с некоторыми аминокислотами // Докл. АН СССР. Сер. хим. – 1979. –Т. 247, № 4. – С. 862–865.

54. Herrmann T., Jayaweera A., Shamoo A. Interaction of europium(III) phospholipid vasicles as monitored by laser – excited europium(III) luminescence // Biochem. – 1986. – Vol. 25. – P. 5834–5838.

55. Wu M., Lin Z., Wolfbeis O. Determination of the activity of catalase using a europium(III)–tetracycline-derived fluorescent substrate // Anal. Biochem. – 2003. – Vol. 320. – P. 129–135.

56. Steinkamp T., Schweppe F., Krebs B., Karst U. A tripod ligand as a new sensitiser for the enzyme amplified lanthanide luminescence determination of esterase // Analyst. – 2003. – Vol. 128. – P. 29–31.

57. Silber H., Maraschin V., Paquette S., Smith S. Luminescence studies of lanthanide complexation reactions: europium(III) with saccharin in water // J. Alloys Compounds. – 2004. – Vol. 374. – P. 339–343.

58. Galtayries M., Aguilar-Caballos M., Gómez-Hens A. Determination of methyl anthranilate in food samples by coupling stopped- flow mixing technique and time-resolved luminescence detection // J. Luminescence. – 2000. – Vol. 15. – P. 363–369.

59. Torre M., Gómez-Hens A. Evaluation of the terbium(III)-sensitized luminescence with benzenepolycarboxylic acids. Determination of terephthalic acid in drink samples // Anal. Chim. Acta. – 2000. – Vol. 407. – P. 53–60.

60. Panadero S., Gómez-Hens A., Perez-Bendito D. Kinetic determination of carminic acid by its inhibition of lanthanide-sensitized luminescence // Fres. J Anal. Chem. – 1997. – Vol. 357. –P.80–83.

61. Panadero S., Gómez-Hens A., Perez – Bendito D. Kinetic determination of propyl gallate in edible and oils with sensitized terbium(III) luminescence detection // Analyst. – 1995. – Vol. 120. – P.125–128.

62. Mayer A., Neuenhofer S. Luminescent labels-more than just an alternative to radioisotopes? // Angew. Chem. Int. Ed. - 1994. – Vol. 33. – P. 1044–1072.

63. Beltyukova S.V., Tselik E.I., Egorova A.V. Use of sensitized luminescence of lanthanides in analysis of drugs. // J. Pharm. Biomed. Anal. – 1998. – Vol. 18. – P. 261–266.

64. Егорова А.В., Витюкова Е.О., Бельтюкова С.В., Малинка Е.В. Определение окситетрациклина в молоке с использованием сенсибилизированной люминесценции ионов европия // Вісн. Одеськ. нац. ун-ту. Хімія. – 2004. – Т.9, вип. 6. – С. 95–104.

65. Casas-Hernández A., Aguilar-Caballos M., Gómez-Hens. Application of time-resolved luminescence to dry reagent chemical technology // Anal. Chim. Acta. – 2002. – Vol. 452. P. 169–175.

66. Casas-Hernández M., Aguilar-Caballos P. Gómez-Hens A. Luminescence application of time-resolved luminescence methodology to the determination of phthalate esters // Anal. Lett. – 2003. – Vol. 36, № 5. – P. 1017–1027.

67. Cabredo S., Smith B., Winefordner J. Energy transfer between glucose and dysprosium (III) in aqueous solution // Anal. Scienc. – 1997. – Vol. 13. – P. 37–40.

68. Beltyukova S.V., Egorova A.V., Teslyuk O.I., Tselik E.I. Solid-phase luminescence determination of ciprofloxacin and norfloxacin in biological fluids // J. Fluorescence. – 2002. – Vol. 12, № 2. – P. 269–272.

69. Lianidou E., Ioannou P. Simple spectrofluorometric determination of p-aminobenzoic and p- aminosalicylic acids in biological fluids by use of terbium-sensitized luminescence // Clin. Chem. – 1996. – Vol. 42. – P. 1659–1665.

70. Panadero S., Gomez – Hens A., Perez – Bendito D. Use of time-resolved lanthanide-sensitized luminescence for the kinetic determination of p-

aminobenzoic acid // Talanta. – 1998. – Vol. 45. - P. 829–834.

71. Egorova A., Beltyukova S., Teslyuk O., Karpinchik V. Application of f–f luminescence of terbium ion for determination of non-steroidal anti-inflammatory drug-niflumic acid // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2001. – Vol. 24. – P 1081–1085.

72. Panadero S., Gomez – Hens A., Perez – Bendito D. Kinetic determination of salicylic acid, diflunisal ad their mixture based on lanthanide – sensitized luminescence // Anal. Chim. Acta. – 1996. – Vol. 329. – P. 135–141.

73. Egorova A., Beltyukova S. Sensitization of europium luminescence in complexes with thiaprophenic acid // J. Fluorescence. – 1999. – Vol. 9, № 3. – P. 245–249.

74. Ioannou P., Rusakova N., Andrikopoulou D., K. Tzompanaki M. Spectrofluorimetric determination of anthranilic acid derivatives based on terbium sensitized fluorescence // Analyst. – 1998. – Vol. 123. – P. 2839–2843.

75. Zhang T., Zhao H., Jin L. Photochemical fluorescence enhancement of the terbium-lomefloxacin complex and its application // Talanta. – 1999. – Vol. 49. – P. 77–82.

76. Антонович В.П., Егорова А.В., Бельтюкова С.В., Теслюк О.И. Люминесцентное определение ломефлоксацина в виде комплекса с европием (III) // Вісн. Фармації. - 1999. – Т. 20, № 2.- С. 88–91.

77. Hernandez-Arteseros J.A., Compano R., Ferrer R., Prat M.D. Application principal component regression to luminescence data for the screening of ciprofloxacin and enrofloxacin in animal tissues // Analyst. - 2000. - Vol. 125. – P. 1155–1158.

78. Бельтюкова С.В., Кравченко Т.Б., Полуэктов Н.С., Кононенко Л.И., Грицай Т.Л. Использование налидиксовой кислоты в люминесцентном анализе // Докл. АН УССР. Сер Б. - 1983.- №12. - С. 29–31.

79. Wenzel T.J., Zomlefer K., Rapkin S.B., Keith R.H. Lanthanide luminescence detection of bleomycins and nalidic acid // J. Liq. Chromatogr. – 1995. – Vol. 18,№ 7. – P. 1473–1486

80. Panadero S., Gomez – Hens A., Perez – Bendito D. Stopped flow kinetic determination of nalidixic acid and norfloxacin based on lanthanide – sensitized fluorescence. // Anal. Chim. Acta. – 1995. – Vol. 303. – P. 39–45.

81. Lorent Martınez E.J., Garcıa Reyes J.F., Ortega Barrales P., Molina Dıa A. Terbium-sensitized luminescence optosensor for the determination of norfloxacin in biological fluids // Anal. Chim. Acta. – 2005. – Vol. 532. P. 159–164.

82. Tong C., Xiang G. Sensitive determination of norfloxacin by the fluorescence probeof terbium (III)-sodium dodecylbenzene sulfonate and its luminescence mechanism // J. Fluorescence. – 2006. – Vol. 16. – P. 831–837.

83. Si Z., Jiang W., Wang L., Ma G., Hu J. Study of the fluorescence system of europium-enoxacin and its applications // Microchim. Acta. – 2002. – Vol. 138, № 1-2. - P. 19–22.

84. Veiopoulou C., Ioannou P., Lianidou E. Application of terbium sensitized fluorescence for the determination of fluorquinolone antibiotics perfloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin in serum // J. Pharm. Biomed. Anal. – 1997. – Vol. 15, № 12. – P. 1839–1844.

85. Egorova A., Beltyukova S., Teslyuk O. Fluorimetric determination of pipemidinic acid using the europium chelate // J. Pharm. Biomed. Anal. – 1999. – Vol. 21. –P. 585–590.

86. Rieutord A., Vazquez L., Soursac M., Prognon P., Blais J., Bourget Ph., Mahuzier G. Fluoroquinolones as sensitizers of lanthanide fluorescence: application to the liquid chromatographic determination of ciprofloxacin using terbium // Anal. Chim. Acta. - 1994. - Vol. 290. - P. 215–225.

87. Ocana J.A., Callejon M. and Barragan F.J. Terbium-sensitized luminescence determination of levofloxacin in tablets and human urine and serum // Analyst. - 2000. – Vol. 125. - P.1851–1854.

88. You F., Zhang T., Zhao H., Jin L., Wang S. Observations on photochemical fluorescence enhancement of terbium (III) – sparfloxacin system // Spectrochim. Acta Part A. – 1999. – Vol. 55. – P. 1119–1125.

89. Ocana J.A., Barragan F.J., Callejon M. Spectrofluorimetric determination of moxifloxacin in tablets, human urine and serum // Analyst. - 2000. – Vol. 125, № 1–3. - P.197–204.

90. Ocana J., Callejon M., Barragan F. Determination of trovafloxacin in human serum by time resolved terbium-sensitized luminescence // European J. Pharm. Scienc. – 2001. – Vol. 13. – P. 297–301.

91. Guoa Ch., Wanga L., Houa Zh., Jiangb W., Sanga L. Micelle-enhanced and terbium-sensitized spectrofluorimetric determination of gatifloxacin and its interaction mechanism // Spectrochim. Acta Part A. – 2009. – Vol. 72, № 3. –P. 766 – 771.

92. Rodrıguez-Dıaz R.C., Aguilar-Caballos M.P., Gómez-Hens A. Simultaneous determination of ciprofloxacin and tetracycline in biological fluids based on dual – lanthanide sensitized luminescence using dry reagent chemical technology // Anal. Chim. Acta. – 2003. – Vol. 494. – P. 55–62.

93. Hirschy M, Dose V., Winefordner D. Lanthanide – sensitized luminescence for the detection of tetracyclines // Anal. Chim. Acta. – 1983. – Vol. 147. – P. 311–316.

94. Штыков С.Н., Смирнова Т.Д., Былинкин Ю.Г., Жемеричкин Д.А. Флуориметрическое определение тетрациклинов с помощью хелата европия с 1,10-фенантролином в мицеллярных растворах анионных ПАВ // Журн. аналит. химии.–2005.– Т.60,№1,С.30–34.

95. Duggan J.X. Phosphorimetric detection in HPLC via trivalent lanthanids: high sensitive time – resolved luminescence detection of tetracyclines using Eu^{3+} in a

© А.В. Егорова, Ю.В. Скрипинец, Д.И. Александрова, В.П. Антонович

micellar post column reagent // J. Liq. Chromatogr. – 1991. – Vol. 14, №13. – P. 2499–2525.

96. Wang H., Hou F., Jiang C. Ethyl substituted β-cyclodextrin enhanced fluorimetric method for the determination of trace amounts of oxytetracycline in rine, serum, feed of chook and milk // J. Luminescence. – 2005. – Vol. 113. – P 94–99.

97. Chena G., Schneider M., Darwish A., Lehotay S., Freeman D. Europium-sensitized luminescence determination of oxytetracycline in catfish muscle // Talanta. – 2004 – Vol. 64 – P. 252–257.

98. Yegorova A. Vityukova E., Beltyukova S.,Duerkop A. Determination of citrate in tablets and of oxytetracycline in serum using europium (III) luminescence // Microchem.J.2006. – Vol 83. – P. 1–6.

99. Traviesa-Alvarez J.M., Costa-Fern.andez J.M., Pereiro R., Sanz-Medel A. Direct screening of tetracyclines in water and bovine milk using room temperature phosphorescence detection // Anal. Chim. Acta – 2007. – Vol.589, №5. – P. 51–58.

100. Витюкова Е.О., Егорова А.В., Бельтюкова С.В., Антонович В.П. Определение метациклина и глюкозы в биологических жидкостях по сенсибилизированной люминесценции европия (III) // Журн. аналит. химии. – 2004. – Т. 59, №7. – С. 714–719.

101. Zhang N., Liu J., Jiang C. Lysozyme – enhanced europium(III) – metacycline luminescence and its application to the determination of metacycline // Anal. Scienc. – 2005. – Vol. 21. – P. 541–544.

102. Mahedero C., Bohoyo D., Salinas F., Ardila T., Airado D., Roldan B. Short communication improvements in europium sensitized fluorimetric determination of demeclocycline and methacycline // J. Pharma. Biomed. Anal. – 2005. – Vol. 37. – P. 1101–1104.

103. Schneider M.J., Chen G. Time-resolved luminescence screening assay for tetracyclines in chicken muscle // Anal. Lett. – 2004. – Vol. 37, №10. – P. 2067–2078.

104. Izquierdo P., Gomez – Hens A., Perez – Bendito D. Simultaneous stopped – flow determination of tetracycline and doxycycline in serum based on lathanide – sensitized luminescence // Anal. Lett. – 1994. – Vol. 27, № 12. – P. 2303–2316.

105. Kaczmarek M., Lis S. Chemiluminescence determination of tetracyclines using Fenton system in the presence europium(III) ions // Anal. Chim. Acta .– 2009.–Vol. 639 – P. 96 – 100.

106. 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 (Tb^{3+}) // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2003. – Vol. 32. – P. 1219–1225.

107. Егорова А.В., Витюкова Е.О., Бельтюкова С.В., Теслюк О.И., Желтвай А.И. Определение цефтриаксона с использованием сенсибилизированной люминесценции европия // Укр. хим. журн. – 2003. – Т. 69, № 11-12. – С. 99–103.

108. Rizk M., El-Shabrawy Y., Zakhari N.A., Toubar S.S., Carreira L.A. Fluorimetric determination of aminoglycoside antibiotics using lanthanide probe ion spectroscopy // Talanta. – 1995. - Vol. 42. – P. 1849 - 1856.

109. Izquierdo P., Gomes - Hens A., Perez - Bendito D. Simultaneous kinetik fluorimetric determination of amoxycillin and clavulanic acid by the stopped flow mixing technique // Analyst. - 1993. - Vol. 118, № 6. - P. 707–710.

110. Gala B., Gomez – Hens A., Perez – Bendito D. Simultaneous determination of ampicilin and tetracycline in milk by using a stopped – flow / T – fonuat spectrofluorimeter // Talanta. – 1997. – Vol. 44 – P. 1883–1889.

111. Perry L., Winefordner J. Selective determination of theophylline in presence of caffeine by sensitized luminescence of europium (III) // Talanta. - 1990. - Vol. 37, № 10. - P. 965–969.

112. Mwalupindi A., Warner I. Determination of theophylline by liquid chromatography with sensitized lanthanide luminescence detection // Anal. Chim. Acta. – 1995. – Vol. 306. – P. 49–56.

113. Способ количественного определения цинхофена: А.С. 1352354 СССР. А.1. - №31/00. / Бельтюкова С.В., Точидловская Т.Л., Полуэктов Н.С. - Заявлено 03.03.86; Опубл. 15.11.87, Бюл. № 42.–2с.

114. 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. - P. 2346–2351.

115. Способ количественного определения пелентана: А.С. 1749791 СССР. А.1. - №21/64./ Бельтюкова С.В., Целик Е.И., Кравченко Т.Б. - Заявлено 09.10.90; Опубл. 22.03.92, Бюл. №27. - 2с.

116. Кравченко Т.Б., Бельтюкова С.В., Кононенко Л.И., Полуэктов Н.С. Люминесцентный метод определения изадрина // Журн. аналит. химии. - 1982. - Т. 37, № 1. - С. 146–148.

117. Fotopoulou M., Ioannou P. Post-column terbium complexation and sensitized fluorescence detection for the determination of norepinephrine, epinephrine and dopamine using high-performance liquid chromatography // Anal. Chim. Acta. – 2002. – Vol. 462. – P. 179–185.

118. Schreurs M., Vissers J., Gooijer C., Velthorst N. Determination of orotate by liquid chromatography with sensitized lanthanide ion luminescence detection // Anal. Chim. Acta. – 1992. – Vol. 262. – P. 201–208.

119. Milofsky R., Spaeth S. Determination of orotic acid in aqueous solutions by micellar electrokinetic capillary chromatography using sensitized lanthanide-ion luminescence detection // Chromatographia. – 1996. – Vol. 42, № 2. – P. 12–16.

120. M.I. Walash, M.S.Rizk, M.I. Eid, M. El S. Fathy Spectrofluorimetric determination of ciclopirox olamine via ternary complex with Tb(III) and EDTA // Acta Pharm. .– 2006. – Vol. 56 – P. 431–440.

121. Menzel E., Menzel L., Schwierking J. Rapid fluorophosphate nerve agent detection with lanthanides // Talanta. – 2005. – Vol. 67. – P. 383–387.

122. 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 thenoyltrifluoroacetonate and AZT // J. Inorg. Biochem. – 2002. – Vol. 88. – P. 87–93.

123. 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.

124. Sendra B., Panadero S., Gómez-Hens A. Kinetic determination of bromadiolone based on lanthanide – sensitized luminescence // Anal. Chim. Acta. – 1997. – Vol. 355. – P. 145–150.

125. Aguilar-Caballos M., Gomez-Hens A., Perez-Bendito D. Determination of lasalocid with sensitized terbium(III) luminescence detection // Talanta. – 1999. - Vol. 48. – P. 209–217.

126. Panadero S., Homez - Hens A., Pe´rez - Bendito D. Stopped - flow determination of diphacinone based on lanthanide - sensitized luminescence // Anal. Chim. Acta. - 1993. - Vol. 280, №1. - P. 163–168.

127. Aguilar-Caballos M., Gomez-Hens A., Pe´rez-Bendito D. Simultaneous stopped-flow determination of butylated hydroxyanisole and propyl gallate using a T-format luminescence spectrometer // J. Agric. Food. Chem. – 2000. – Vol. 48. – P. 312–317.

128. Pellegrino P., Fell N., Rosen D., Gillespie J. Bacterial endospore detection using terbium dipicolinate photoluminescence in the presence of chemical and biological materials // Anal. Chem. 1998. – Vol. 70. – P. 1755–1760.

129. Bornhop D., Hubbard D., Houlne M., Adair C., Kiefer G., Pence B., Morgan D. Fluorescent tissue site-selective lanthanide chelate Tb-PCTMB for enhanced imaging of cancer. // Anal. Chem. – 1999. – Vol. 71. – P. 2607–2615.

130. Lim M., Patton W., Lopez M., Spofford K., Shojaee N., Shepro D. A Luminescent europium complex for the sensitive detection of proteins and nucleic acids immobilized on membrane supports // Anal. Biochem. – 1997.– Vol.245. – P. 184–195.

131. Su Y., Xu Y., Yang L., Yang J., Weng S., Yu Z., Wu J. New, rapid fluorescence stain method for histologic sections using lanthanide complexes // Anal. Biochem. – 2005. – Vol. 347. – P. 89–93.

132. Elbanowski M., Makowska B., Staninski K., Kaczmarek M. Chemiluminescence of systems containing lanthanide ions // J. Photochem. Photobiol. A: Chem. – 2000. – Vol. 130. – P. 75–81.

133. Lian N., Zhao H., Sun C., Chen S., Lu Y., Jin L. A study on terbium sensitized chemiluminescence of ciprofloxacin and its application // Microchem. J. – 2003. – Vol. 74. – P. 223–230.

134. Wang X., Chen S., Zhao H., Jin L., Li X. Europium sensitized chemiluminescence determination of pazufloxacin mesylate in urine and serum // Anal. Lett. – 2005. – Vol. 38, № 6. - P. 971–979.

135. Liu Y., Chen S., Zhao H., Jin L. Terbium sensitized determination of tosufloxacin using electrochemiluminescence method // Anal. Scienc. – 2005. – Vol. 21. – P. 373–375.

136. Di Bella E., Weissman B., Joseph J., Schultz R., Wenzel J. Lanthanide ions as luminescent chromophores for liquid chromatographic detection // J. Chromatogr. – 1985. – Vol. 328. – P. 101–109.

137. Wenzel T., Evertsen R., Perrins B., Light T., Bean J., Bean A., Bean C. Solid-phase lanthanide luminescence detection in liquid chromatography // Anal. Chem. – 1998. – Vol. 70. – P. 2085–2091.

138. Vazquez B., Fente C., Franco C., Cepeda A., Prognon P., Mahuzier G. Simultaneous high-performance liquid chromatographic determination of ochratoxin A citrinin in cheese by time - resolved luminescence using terbium // J. Chromatogr. A. – 1996. – Vol. 727. – P.185–193.

139. Schreurs M., Hellendoorn L., Gooijer C., Velthorst N. Time-resolved luminescence detection of derivatized thiols in column liquid chromatography // J. Chromatogr. A. – 1991. – Vol. 552. – P.625–634.

140. Torres-Cartas S., Villanueva-Camanas R., Garcia-Alvares-Coque M. Sensitized lanthanide fluorescence detection of steroidal hormones // J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. – 2000. – Vol. 23. – P.1171–1186.

141. Milofsky R. E., Malberg M.G., Smith J.M. Determination of steroids by micellar electrokinetic chromatography with sensitized room temperature lanthanide ion luminescence detection // J. High Resol. Chromatog. – 1994. - Vol. 17. - P. 731–732.

142. Rabouan S., Barron E., Legube B. Post-chromatographic detection of progesterone using terbium-sensitized luminescence // Anal. Lett. – 2004. – Vol. 37, № 1 - P.131–142.

143. Petersen J., Bissel M., Mohammad A. Laser induced resonance energy transfer – a novel approach towards achieving high sensitivity in capillary electrophoresis // J. Chromatogr. A. – 1996. – Vol. 744. – P. 37–44.

144. Rodriguez-Diaz C., Fernandez-Romero M., Aguilar-Caballos P., Gomez-Hens A. Chromatographic determination of flumequine in food samples by post-column derivatisation with terbium(III) // Anal. Chim. Acta. – 2006. – Vol. 578. - P. 220–226.

145. Lianidou E., Ioannou E., Polydorou C., Efstathiou C. Synchronous scanning second derivative spectrofluorimetry for the simultaneous determination of diflunisal and salicylic acid added to serum and urine at ternary complexes with terbium and EDTA // Anal. Chim. Acta. – 1996. - Vol. 320. – P. 107–113.

146. Wolfbeis O.S. The fluorescence of organic natural products, in: Molecular luminescence spectroscopy: methods & applications, S. G. Schulman (ed.), Wiley, New York, 1985, Vol. 1, p. 167–369.

© А.В. Егорова, Ю.В. Скрипинец, Д.И. Александрова, В.П. Антонович

147. Long Eric C., Barton Jacqueline K. Commentary on demonstrating DNA intercalation. // Acc. Chem. Res. – 1990. - Vol. 23, № 9. - P. 271–273.

148. Lepecq J. B., Paoletti C. A fluorescence complex between ethidium bromide and nucleic acids // J. Mol. Biol. – 1967. – Vol.27 – P. 87–106.

149. Tang H.W., Cheng G.Q., Zeng Y.E. Screening of anticancer drug by acridine orange – cellular DNA fluorescence inhibition // Chem. J. Chinese University.– 1997.–Vol.18. №12.– P.1960–1962.

150. Zhang H.M., Guo X.Q., Zhao Y.B., Wang D.Y., Xu J.G. Study on the dimer-monomer equilibrium of a fluorescent dye and its application in nucleic acids determination // Anal. Chim. Acta. – 1998. – Vol. 361. – P. 9–17.

151. Zhou Y., Mao S., Li Y., Chang W. Improved fluorometric DNA determination based on the interaction of the DNA / polycation complex with Hoechst 33258 // Microchim. Acta. – 2004. – Vol. 144. – P. 191–197.

152. Singer V.L., Jones L.J, Yue S.T., Haugland R.P. Characterization of pico green reagent and development of a fluorescence-based solution assayfor double-stranded DNA quantitation // Anal. Biochem. – 1997. – Vol. 249. – P. 228–238.

153. Haugland R. P. (editor). Handbook of Fluorescent Probes and Research Products, 9 ed. Molecular Probes, 2003, 850 p.

154. Rye H.S., Quesada M.A., Peck M., Mathies RA, Glazer A.N. High – sensitivity two – color detection of double – stranded DNA with a confocal fluorescence gel scanner using ethidium homodimer and thiazole orange // Nucleic Acids Res. – 1990. – Vol. 19. – P. 327–333.

155. Kirschstein O., Sip M., Kittler L. Quantitative and sequence specific analysis of DNA-ligand interaction by means of fluorescent intercalator probes // J. Mol. Recognit. – 2000. – Vol. 13. – P. 157–163.

156. Rye H.S., Jonathan M.D., Quesada M.A. Fluorometric assay using dimeric dyes for double- and single – stranded DNA and RNA with picogram sensitivity // Anal. Biochem. – 1993. – Vol. 208. – P. 144–150.

157. Kong D., Huang Y., Zhang X., Yang W., Shen H., Mi H. Duplex probes: a new approach for the detection of specific nucleic acids in homogenous assays // Anal. Chim. Acta. – 2003. – Vol. 491. – P. 135–143.

158. Zheng H., Chen X.L., Zhu C.Q., Li D.H., Chen Q.Y., Xu J.G. Brilliant cresyl blue as a new red region fluorescent probe for determination of nucleic acids // Microchem. J. – 2000. – Vol. 64. – P. 263–269.

159. Chen Y., Li H., Zhao Y., Yang H., Zhu Z., Xu G. Interaction of a novel red-region fluorescent probe, nile blue, with DNA and its application to nucleic acids assay // Analyst. – 1999. – Vol. 124. – P. 901–906.

160. Zhu Z., Yang H., Li H., Xu G. Determination of nucleic asids using phosphin 3R as a fluorescence probe // Anal. Chim. Acta. – 1999. – Vol. 394. – P. 177–184.

161. Hwangbo Y., Lee Y., Park H., Lee R., Kim M., Yi S., Kim K. Interaction of norfloxacin with super-coiled DNA // Bull. Kor. Chem. Soc. – 2003. – Vol. 24. – P. 579–582.

162. Siegmund K., Maheshwary S., Narayanan S., Connors W. Molecular details of quinolone–DNA interactions: solution structure of an unusually stable DNA duplex with covalently linked nalidixic acid residues and non-covalent complexes derived from it // Nucl. Acid. Res. - 2005. – 33, № 15. – P. 4838–4848.

163. Ling L., He Z., Song G., Han H., Zhang H., Zeng Y. Determination of DNA by use of the moleculare «light swith» complex of Ru(bipy)(dppz)$^{2+}$ // Microchim. Acta. – 2000. – Vol. 134. – P. 57–62.

164. Cao Q., Zhao Y., Xu Y., Li C., Hu Z., Xu Q. Studies on the fluorescence reaction between nucleic acid and the complex of cobalt (II) with 5-(3-fluoro-4-chlorophenylazo)-8-sulfonamidoquinoline and its applications // Anal. Biochem. – 2000. – Vol. 277. – P. 214–220.

165. Zhang Y., Zong Z., Gong G, Sun B., Duan H., Mu D., Xu X. Spectrofluorimetric determination of DNA with the ternary of quercetin-Zn(II) and DNA // J. Lanzhou University (Natural Sciences). – 2000. – Vol. 36. – P. 100–104.

166. Huang C., Li Y., Tong S. Spectrofluorimetric determination of nucleic acids with aluminium(III)/8-hydroxyquinoline complex // Anal. Lett. – 1997. – Vol. 30, № 7. – P. 1305–1309.

167. Huang C., Li K., Tong S. Fluorescence complexes of nucleic acids 8-hydroxyquinoline/ lanthanum and the fluorometry of nucleic acids // Anal. Lett. – 1996. – Vol. 29. – P. 1705–1717.

168. Wu X., Sun S., Yang J., Wang Y., Li Y., Su B. Study of the reaction between nucleic acid and Y-BPMPHD – CTMAB complex and its analytical application // J. Fluorescence. – 2004. – Vol. 14, № 1. – P. 113–118.

169. Yang J., Tong S., Jie N., Gong H. Gao Z. Fluorescence reaction between ribonucleic acid and terbium (III) and determination of ribonucleic acid // Chinese Biochem. J. – 1996. – Vol. 12, № 2. – P. 143–146.

170. Ci Y.-X., Li Yuan Z., Liu X.-J. Selective Determination of DNA by its enhancement effect on the fluorescence of the Eu-tetracycline complex // Anal. Chem. – 1995. – Vol. – 67. – P. 1785–1788.

171. Liu R., Yang J., Wu X. Study of the interaction between nucleic acid and oxytetracycline-Eu $^{3+}$ and its analytical application // J. Luminescence. – 2002. – Vol. – 96. – P. 201–209.

172. Wu X., Guo C., Yang J., Wang M., Chen Y, Liu J. The sensitive determination of nucleic acids using fluorescence enhancement of Eu^{3+}-benzoylacetone-cetyltrimethylammonium bromide-nucleic acid system // J. Fluorescence. –2005. – Vol. 15, № 5. – P. 655–660.

173. Li S., Yuan W., Zhu C., Xu J. Species-differentiable sensing of phosphate-containing anions in neutral aqueous solution based on coordinatively

unsaturated lanthanide complex probes // Anal. Biochem. – 2004. – Vol. 331. – P. 235–242.

174. Ci Y., Li Y., Chang W. Fluorescence reaction of terbium (III) with nucleic acids in the presence of phenanthroline // Anal. Chim. Acta. – 1991. – Vol. 248. – P. 589–594.

175. Zhao Y.,Wang D., Guo X., Xu J. Determination of DNA and RNA by their quenching effect on the fluorescence of the Tb^{3+} - Tiron complex // Anal. Chim. Acta. – 1997. – Vol. 353. – P. 329–335.

176. Wu X., Yang J., Huang F., Wang M., Sun L., Xu G. Study of the reaction between nucleic acids and Tb-BPMPHD-CTMAB complex and its analytical application // Anal. Lett. - 1999. – Vol. 32, № 12. – P. 2417–2425.

177. Tong Ch., Hu Zh., Liu W. Sensitive determination of DNA based on the interaction between norfloxacin-Tb^{3+} complex and DNA // J. Agric. Food Chem. – 2005. – Vol. 53. – P. 6207–6212.

178. Tong Ch., Hu Zh., Liu W. Enoxacin–Tb^{3+} complex as an environmentally friendly fluorescence probe for DNA and its application // Talanta. – 2007. - Vol. 71, № 2. – P. 816–821.

179. Yegorova A.V., Scripinets Y.V., Duerkop A., Karasyov A.A., Antonovich V.P., Wolfbeis O.S. Sensitive luminescent determination of DNA using the terbium(III)–difloxacin complex // Anal. Chim. Acta. – 2007. – Vol. 584. - P. 260–267.

180. Yegorova A., Karasyov A., Duerkop A., Ukrainets I., Antonovich V. New luminescent terbium complex for the determination of DNA // Spectrochim. Acta. Part A. – 2005. – Vol. 61. – P. 109–116.

181. Rintamaki S., Saukkoriipi A., Salo P., Takala A., Leinonen M. Detection of streptococcus pneumoniae DNA by using polymerase chain reaction and microwell hybridization with europium-labelled probes // J. Microbiol. Methods. – 2002. – Vol. 50. – P. 313–318.

182. Ylikoski A., Eloma A., Ollikka P., Hakala H., Mukkala V.-M., Hovinen J., Hemmilä I. Homogeneous time-resolved fluorescence quenching assay (trupoint) for nucleic acid detection// Clin. Chem. – 2004. - Vol. 50. – P. 1943–1947.

183. Diamandis E. Immunoassays with time-resolved fluorescence spectroscopy: principlesand applications // Clin. Biochem. – 1988. – Vol. 21. – P. 139–150.

184. Dickson E., Pollak A., Diamandis E. Time-resolved detection of lanthanide luminescence ultrasensitive bioanalytical assays // J. Photochem. Photobiol B: Biol. – 1995. – Vol. 27. – P. 3–19.

185. Jingli Yuan, Guilan Wang P. Lanthanide complex-based fluorescence label for time-resolved fluorescence bioassay // J. Fluorescence. – 2005. - Vol. 15, № 4. – P. 559–568.

186. Hemmila I., Laitala V. Progress in Lanthanides as Luminescent Probes // J. Fluorescence. – 2005. – Vol. 15, № 4. – P. 529–542.

187. Савицкий А.П. Флуоресцентный анализ: иммуноанализ, гибридные ДНК, биосенсоры // Успехи биологич. химии. - 1990. - С. 209–240.

188. Diamandis E.P. Multiple labeling and time-resolvable fluorophores // Clin. Chem. – 1991. – Vol.37,№ 9. – P. 1486–1491.

189. Пономарева И.В., Савицкий А.П., Шаханина К.Л. Флуоресцентный иммуноанализ с временным разрешением. Использование различных производных поликарбоновых кислот для получения конъюгатов антител с европием // Иммунология. – 1989. – № 4. – С. 76–78.

190. Hemmila I., Mukkala V. Time-resolution in fluorometry technologies, labels, and applications in bioanalytical assays // Crit. Rev. Clin. Lab. Scienc. – 2001. – Vol. 38, № 6. – P. 441–519.

191. Keelan J., France J., Barlivg P. An alternative fluorescence enhancement solution for use in lanthanide-based time - resolved fluoroimmunoassays // Clin. Chem. - 1997. - Vol. 33, № 12. - P. 2292–2295.

192. Милюкене В.В. Раудзявичене Ю.А., Дединене Я.Л. Применение метода лантанидного иммунофлуоресцентного анализа для выявления Fc-рецепторов лимфоцитов // Журн. прикл. спектроскопии. – 1995. – Т. 54, № 2. – С. 96–99.

193. Wu F., Han S., Zhang C., He Y. Synthesis of a highly fluorescent β-diketone – europium chelate and its utility in time – resolved fluoroimmunoassay of serum total thyroxine // Anal. Chem. – 2002. - Vol. 74. – P. 5882–5889.

194. Beltyukova S., Egorova A.Terbium chelates for fluorescence immunoassays// J. Pharm. Biomed. Anal. - 1998. - Vol. 18. - P. 267–270.

195. Бельтюкова С., Егорова А., Теслюк О. // Хелаты европия (III) и тербия (III) с производными хинолонкарбоновой кислоты как метки для иммунофлуоресцентного анализа // Журн. аналит. химии. – 2000. - Т. 55, №7. - С. 760–763.

196. Canfi A., Rocks B. Fluorescent terbium chelate derived from diethylentriaminepentaacetic acid and heterocyclic compounds // Analyst. - 1989. - Vol. 114. - P. 1407–1411.

197. Yuan J., Wang G., Majima K., Matsumoto K. Synthesis of a terbium fluorescent chelate and its application to time-resolved fluoroimmunoassay // Anal. Chem. - 2001. – Vol. 73. - P. 1869–1876.

198. Hemmilä I., Dakuby S., Mukkala V., Siitari H., Lovgren T. Europium as a label in time - resolved immunofluorometric assays // Anal. Biochem. - 1984. - Vol. 137, № 2. - P. 335–33.

199. Siepak J. Terbium chelate labels for fluorescence immunoassay // Analyst. – 1989. – Vol. 114. – P.529–530.

200. Matsuya T., Tashiro S., Hoshino N., Shibata N., Nagasaki Y., Kataoka K. A core-shell-type fluorescent nanosphere possessing reactive poly(ethylene glycol) tethered chains on the surface for zeptomole detection of protein in time-resolved fluorometric immunoassay // Anal. Chem. - 2003. – Vol. 75. – P. 6124–6132.

201. Pelkkikangas A., Jaakohuhta S., Lövgren T., Härmä H. Simple, rapid, and sensitive thyroid-stimulating hormone immunoassay using europium(III) nanoparticle

© А.В. Егорова, Ю.В. Скрипинец, Д.И. Александрова, В.П. Антонович

label // Anal. Chim. Acta. – 2004. – Vol. 517. – P. 169–176.

202. Butchera H., Kennettea W., Collinsb O., J. Demoor, J. Koropatnick. A sensitive time-resolved fluorescent immunoassay for metallothionein protein // J. Immunol. Methods. – 2003. – Vol. 272. – P. 247–256.

203. Melegos D., Diamandis E., Oda H., Urade Y., Hayaishi O. Immunofluorometric assay of prostaglandin D synthase in human tissue extracts and fluids // Clin. Chem. – 1996. –Vol. 42. – P. 1984–1991.

204. Karvinen J., Elomaa A., Makinen M., Hakala H., Mukkala V., Peuralahti J., Hurskainen P., Hovinen J., Hemmilä I. Caspase multiplexing: simultaneous homogeneous time – resolved quenching assay (TruPoint) for caspases 1, 3, and 6 // Anal. Biochem. - 2004. – Vol. 325. - P. 317–325.

205. Härmäa H., Aronkytö P., Lövgren T. Multiplex immunoassays on size-categorized individual beads using time-resolved fluorescence // Anal. Chim. Acta. – 2000. – Vol.410. – P.85–96.

206. Petterson K., Alfthan H., Stenman U. Simulltaneous assay of α-fetoprotein and free β subunit of human chorionic gonadotropin by dual - label time - resolved immunofluorometric assay // Clin. Chem. – 1993. – Vol.39, № 10. – P. 2084–2089.

207. Xu Y., Dettersson K., Blomberg K. Simultaneous quadruple - label fluorometric immunoassay of thyroid - stimulating hormone, 17α-hydroxyprogesterone, immunoreactive trypsin, and creatine kinase MM isoenzyme in dried blood spots // Clin. Chem. – 1992. – Vol. 38, №10. – P. 2038–2043.

208. Yuan J., Matsumoto K., Kimura H. A new tetradentate β-diketonate-europium chelate that can be covalently bound to proteinsfor time-resolved fluoroimmunoassay // Anal. Chem. – 1998. – Vol. 70. – P. 596–601.

209. Khosravi M., Chan M., Morton R.., Bellem A. A sensitive time - resolved immunofluorometric assay of ferritin in serum with monoclonal antibodies // Clin. Chim. Acta. – 1998. – Vol. 175. – P. 267–276.

210. Lode P., Rosenberg J., Pettersson K., Takalo H. A europium chelate for quantitative point-of-care immunoassays using direct surface measurement // Anal. Chem. – 2003. – Vol. 75. – P. 3193–3201.

211. Majima K., Fukui T., Yuan J., Wang G., Matsumoto K. Quantative measurements of 17 – β-estradiol and estriol in river water by time – resolved fluoroimmunoassay // Anal. Scienc. – 2002. – Vol. 18. – P. 869–874.

212. Kobayashi M., Kimura H., Liao J., Abe M. et. al. Measurement of mouse urinary type IV collagen using time – resolved fluoroimmunoassay // Anal. Scienc. – 2003. – Vol. 19. – P. 205 - 210.

213. Wua F., Zhang C. A new europium β-diketone chelate for ultrasensitive time-resolved fluorescence immunoassays // Anal. Biochem. - 2002. – Vol. 311. – P. 57 - 67.

214. Luo L., Diamandis E. Preliminary examination of time-resolved fluorometry for protein array applications // J. Luminescence. - 2000. - Vol. 15. – P. 409 - 413.

215. Hia X., Tan M., Wang G., Ye Z., Yuan J., Matsumoto K. Preparation and a time-resolved fluoroimmunoassay application of new europium fluorescent nanoparticles // Anal. Scienc. – 2004. – Vol. 20. – P. 245 - 246.

216. Wu F., Han S., Zhang C., He Y. Synthesis of a highly fluorescent β-diketone-europium chelate and its utility intime-resolved fluoroimmunoassay of serum total thyroxine // Anal. Chem. – 2002. – Vol. 74. – P. 5882 - 5889.

217. Evangelista R., Pollak A., Allore B. et al. A new europium chelate for protein labelling and time resolved fluorometric applications // Clin Biochem. - 1988. – Vol. 21. – P. 173–178.

218. Evangelista R., Pollak A., Templeton E. Enzyme-Amplified Lanthanide luminescence for enzime detection in bioanalytica assays // Anal. Biochem. - 1991. - Vol. 197. - P 213–224.

219. Papanastasiou-Diamandi A., Christopoulos T., Diamandis E. Ultrasensitive thyrotropin immunoassay based on enzymatically amplified time-resolved fluorescence with a terbium chelate // Clin. Chem. – 1992. - Vol. 38. – P. 545–548.

220. Christopoulos T., Diamandis E. Enzymatically amplified time-resolved fluorescence immunoassay with terbium chelates // Anal. Chem. – 1992. – Vol. 64. – P. 342–346.

221. Zarghami N., Yu H., Diamandis E., Sutherland D. Quantification of kreatine kinase BB isoenzyme in tumor cytosols and serum with an ultrasensitive time – resolved immunofluorometric technique // Clin. Biochem. – 1995. – Vol. 28, № 3. – P. 243–253.

222. Bathrellos L., Lianidou E., Ioannou P. A Highly Sensitive Enzyme-amplified Lanthanide Luminescence Immunoassay for Interleukin 6 // Clin. Chem. - 1998. – Vol. 44. – P. 1351–1353.

223. Handl H., Robert J. GilliesT. Lanthanide-based luminescent assays for ligand-receptor interactions // Life Scienc. – 2005. - Vol. 77. – P. 361–371.

224. Manning H., Goebel T., Marx J., Facile B. Efficient conjugation of a trifunctional lanthanide chelate to a peripheral benzodiazepine receptor ligand // Org. Lett. – 2002. – Vol. 4, № 7. – P. 1075–1078.