

ANNALES UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN-POLONIA

VOL. XLII/XLIII, 1

SECTIO AA

1987/1988

Zakład Chemii Analitycznej i Analizy Instrumentalnej
Wydział Chemii UMCS

Ryszard DUMKIEWICZ

Jonoselektywne elektrody z pseudociekłą fazą potencjalotwórczą do oznaczania cefalosporyn: elektrody cefazolinowa i cefradynowa

Ion Selective Electrodes with a Pseudoliquid Potential Determining Phase for Cephalosporins Determination; Electrodes: Cephazolin and Cephradine

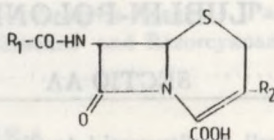
Cefalosporyny są coraz szerzej stosowane w leczeniu, dlatego problemy analityczne występujące w procesie produkcyjnym jak również w analizie produktów farmaceutycznych wymagają stosowania nowych, bardziej efektywnych metod oznaczeń. Znane dotychczas metody oznaczania cefalosporyn: spektrofotometryczna [1,2,3,4], HPLC [5,6], polarograficzna [7], jodometryczna [8] oraz miareczkowania w roztworach niewodnych [9,10] charakteryzują się co prawda korzystną granicą oznaczalności 10^{-4} M, lecz wadą ich jest skomplikowane i dość pracochłonne przygotowanie próbek do analizy znacznie wydłużające czas oznaczania.

Badania prowadzone nad właściwościami elektrod z pseudociekłą fazą potencjalotwórczą, selektywnych względem antybiotyków, doprowadziły do opracowania elektrod z grupy penicylinowych – elektrody kloksacylinowa [11], benzylopenicylinowa [12], ampicylinowa [13] oraz elektrody z grupy cefalosporyn - elektroda cefalotynowa [14].

W pracy niniejszej przedstawiono wyniki badań, które doprowadziły do opracowania elektrody cefazolinowej oraz cefradynowej.

Cefalosporyny (Ryc. 1) budową swą są zbliżone do penicylin, mają 4-członowy układ β -laktamowy, a odróżnia je od penicylin 6-członowy układ dihydrotriasynowy. Obecność grupy karboksylowej przy pierścieniu Δ^3 -dihydrotriasynowym sprawia, że cefalosporyny mogą dysocjować w roztworach wodnych. Aniony cefazolinowe oraz cefradynowe tworzą trwałe kompleksy z ciekłymi anionitami. Połączenia te są trudno rozpuszczalne w wodzie. Dobra rozpuszczalność tych kompleksów w plastyfikatorze sprawia, że mogą one być użyte jako substancje aktywne

Ryc. 1 Budowa cefalosporyn

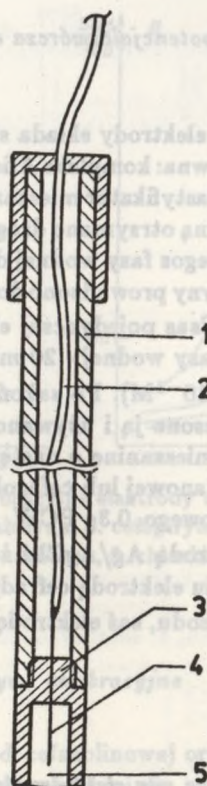


Nazwa cefalosporyny	R ₁	R ₂	Medicament tradename
Cefalotyina		-CH ₂ OCOCH ₃	Cephalothin sodium Inst. Bioch.Piri Milan, Italy
Cefasolina		-CH ₂ -S-CO-	Cafacidal Laboratories Allard Paris
Cefapirina		-CH ₂ OCOCH ₃	Cefaloject Laboratories Bristol Paris
Cefadryna		-CH ₃	Sefril* Polfa Tarchomin

pseudociekłej fazy membranowej. Fazę tę stanowi plastyfikat składający się z kompleksu cefalosporyna - IV-rzędowa sól amoniowa, PVC, plastyfikator. Znajduje się ona w csujniku elektrody i ma bezpośredni kontakt z chlorkosrebrową elektrodą wyprowadzającą. Potencjał elektrod cefalosporynowych zależy od stężenia cefalosporyny w roztworze i opisany jest równaniem:

$$E = E_0 - 2.303 \frac{RT}{nF} \lg [a_{\text{cefalosporyna}}]$$

Konstrukcja elektrody pokazana jest na ryc. 2. Elektrody z pseudociekłą fazą potencjałotwórczą [15] posiadają wszystkie zalety elektrod "coated wire", a przewyższają je znacznie czasem życia dzięki znacznej objętości fazy potencjałotwórczej, które jest rezerwuarem substancji aktywnej.



Ryc. 2. Konstrukcja elektrody: 1. obudowa, 2. kabel, 3. czujnik, 4. elektroda Ag/AgCl, 5. pseudociekła faza potencjalotwórcza

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Odczynniki: chlorek sodu, azotan sodu, octan sodu (cz. d. a., POCh - Gliwice), cefalotynian sodu - Inst. Bioch. Piri, Milan, Italy, Sefril* - POLFA-Tarchomin, Lic. E.R.Squibb and Sons Inc., cefapirynian sodu - Lab.Bristol - Paris, ciekły wymienniacz - Aliquat 336 - General Mills, USA.

Rostwory podstawowe cefalosporyn otrzymywano przez rospuszczenie odważki cefalosporyny w wodzie redestylowanej. Rostwory robocze otrzymywano metodą rozcieńczeń roztworu podstawowego. Rostwór podstawowy cefradynianu sodu (Sefril*) uzyskano przez sobojętnienie odpowiedniej odważki kwasu cefradynowego wodorotlenkiem sodu. Rostwory cefalosporyn przygotowywane były codziennie, pomiędzy pomiarami przechowywano je w lodówce w temp. +5°C. Wszystkie roztwory przygotowywano przy użyciu wody redestylowanej.

Faza potencjalotwórcza elektrody

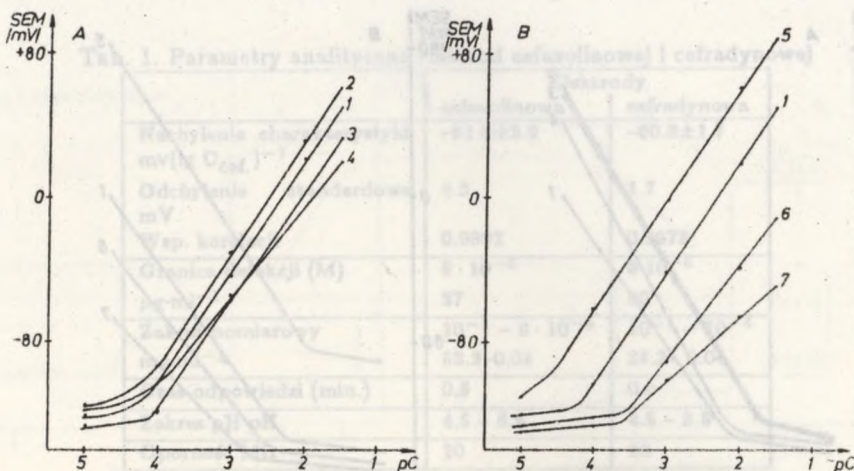
Faza potencjalotwórcza elektrody składa się z plastyfikatu PCW, w którym sawieszona jest substancja aktywna: kompleks Aliquat 336 – odpowiednia cefalosporyna. Rozpuszczalnikiem jest plastyfikator mieszany: ftalan dwubutyłowy – fosforan trójbutyłowy. Substancję aktywną otrzymano drogą periodycznej ekstrakcji jonowymiennej anionu cefalosporynowego z fazy wodnej do fazy organicznej, którą był Aliquat 336. Ekstrakcję cefalosporyny prowadzono do zaniku reakcji na obecność jonów chlorkowych w fazie wodnej. (Czas pojedynczej ekstrakcji – 10 min. Objętość fazy organicznej - 10 ml. Objętość fazy wodnej - 20 ml. Stężenie cefradynianu sodu lub cefazolinianu w fazie wodnej - $10^{-1}M$). Po zakończeniu ekstrakcji fazę organiczną oddzielono od fazy wodnej, suszono ją i używano do preparatyki fazy membranowej. W tym celu sporządzono mieszaninę o następującym składzie wagowym: 0.1g Aliquat 336 w formie cefradynianowej lub cefazolinowej, 0.59g ftalanu dwubutyłowego, 0.01g fosforanu trójbutyłowego, 0.3g PCW. Mieszaniną tą napełniono czujnik elektrody z wprowadzoną elektrodą Ag/AgCl i żelowano ją w temp. 80 – 85°C w czasie ok. 30 min. Po ostygnięciu elektrodę cefradynową kondycjonowano ok. 4 h w $10^{-1}M$ roztworze cefradynianu sodu, zaś elektrodę cefazolinową w $10^{-1}M$ roztworze cefazolinianu sodu.

Pomiar siły elektromotorycznej

Pomiar siły elektromotorycznej układu elektroda cefalosporynowa - elektroda odniesienia (Orion 90-02) wykonywano w temperaturze $25^{\circ}C \pm 0.1$, w naczyniach termostatowanych. (Ultratermostat U-2 prod. NRD). Rostwory mieszane były mieszanym mechanicznym. Klucz elektrolityczny elektrody odniesienia napełniony był $5 \cdot 10^{-2}M$ roztworem CH_3COOH Na, $pH=7.0$. Pomiar wykonywano przy pomocy Microprocesor Ionalyzer Orion 901 lub Radiometer Copenhagen PHM-62 Standard pH-Meter. Dane potencjometryczne rejestrowano przy pomocy rejestratora BME 79812 Recorder Musser Meresstechnike - Hungary.

Wyniki

W celu oceny przydatności analitycznej elektrod cefalosporynowych wysnuto ich podstawowe parametry analityczne: nachylenie charakterystyki, granicę detekcji, selektywność, czas odpowiedzi, zależność potencjału elektrody od pH roztworu.



Ryc. 3. Krzywe kalibracyjne elektrody cefazolinowej:
 A. 1. cefazolina, 2. cefalotyna, 3. cefapiryna, 4. cefradyna,
 B. 1. cefazolina, 5. azotany, 6. chlorki, 7. octany

Krzywe kalibracyjne

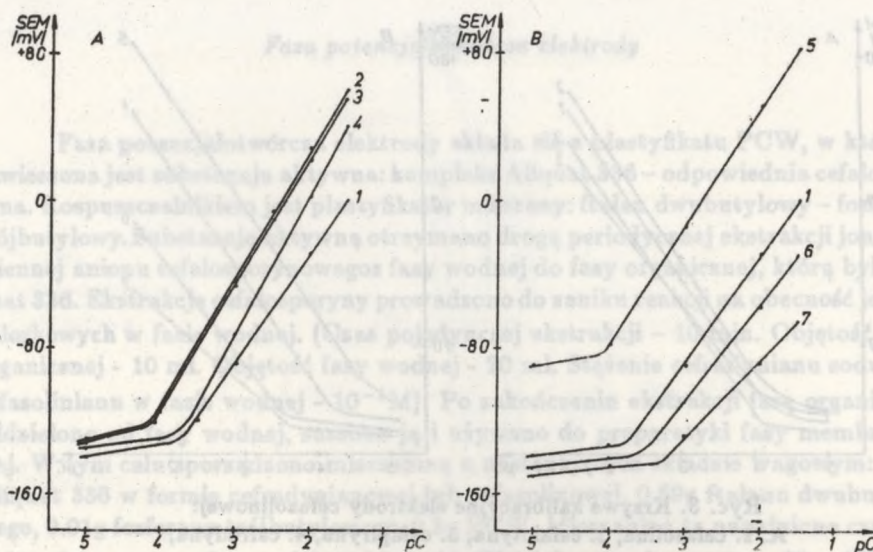
Krzywe kalibracyjne elektrod cefazolinowej oraz cefradynowej wyznaczano w roztworach cefazolinianu sodu lub cefradynianu sodu w zakresie stężeń 10^{-1} – 10^{-5} M. Rostwory otrzymano metodą rozcieńczeń roztworu podstawowego. Uzyskane wyniki pokazano na ryc. 3,4.

Nachylenie charakterystyki elektrody cefazolinowej wynosi -61.9 mV/pc, granica detekcji $5 \cdot 10^{-5}$ M. Parametry elektrody cefradynowej są podobne: nachylenie charakterystyki -60.3 mV/pc, granica detekcji $8 \cdot 10^{-5}$ M. W roztworach o "stałej" mocy jonowej $I=0.2$ nachylenie charakterystyki badanych elektrod jest mniej korzystne i wynosi: elektroda cefazolinowa – 48 mV/pc, elektroda cefradynowa – 46 mV/pc. Niektóre parametry analityczne elektrod cefazolinowej i cefradynowej podano w Tab.1.

Selektywność

Selektywność badanych elektrod oceniano wyznaczając ich współczynniki selektywności w stosunku do jonów interferujących. Współczynniki selektywności wyznaczano dwoma metodami: metodą roztworów oddzielnych oraz metodą roztworów mieszanych. Uzyskane rezultaty przedstawiono w tabeli 3.

Przy wyznaczaniu współczynników selektywności elektrod metodą roz-



Ryc. 4. Krzywe kalibracyjne elektrody cefradynowej
 A. 1. cefradyna, 2. cefalotyna, 3. cefasolina, 4. cefapiryna
 B. 1. cefradyna, 5. azotany, 6. chlorki, 7. octany

tworów oddzielnych korzystano z saleńności

$$\lg K_{ij} = \frac{E_2 - E_1}{S}$$

odczytując wartości potencjałów przy stężeniu cefalosporyny $10^{-2}M$.

Wyznaczając współczynniki selektywności metodą roztworów mieszaných obliczano je z saleńności:

$$\exp \frac{E_1 - E_2}{RT \cdot F - 1} a_M^- - a_M'^- = K_{MN} a_{N'}'$$

gdzie: a_M^- - aktywność jonów głównych cefalosporyny, $a_M'^-$ - aktywność jonów cefalosporyny po dodaniu jonów interferujących, $a_{N'}'$ - aktywność jonów interferujących.

Wartości współczynników selektywności elektrody cefasolinowej są korzystniejsze w porównaniu z wartościami charakteryzującymi elektrodę cefradynową. Nie najlepsza selektywność tych elektrod w stosunku do cefalosporyn w niczym nie umniejsza ich przydatności analitycznej, gdyż cefalosporyny te praktycznie nie występują w mieszaninach, zaś w procesie produkcyjnym mamy do czynienia praktycznie z jedną cefalosporyną.

Tab. 1. Parametry analityczne elektrod cefazolinowej i cefradynowej

	Elektrody	
	cefazolinowa	cefradynowa
Nachylenie charakterystyki $\text{mv}(\lg C_{\text{cef.}})^{-1}$	-61.0 ± 3.9	-60.3 ± 1.7
Odchylenie standardowe mV	4.3	1.7
Wsp. korelacji	0.9802	0.9978
Granica detekcji (M) $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	$5 \cdot 10^{-5}$ 27	$8 \cdot 10^{-5}$ 30
Zakres pomiarowy $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$	$10^{-1} - 8 \cdot 10^{-5}$ 53.2-0.04	$10^{-1} - 10^{-4}$ 37.2- 0.04
Czas odpowiedzi (min.)	0.5	0.5
Zakres pH	4.5 - 8.5	4.5 - 8.5
Oporność $M\Omega$	20	20

Tab. 2. Współczynniki selektywności elektrod cefazolinowej i cefradynowej

Współczynniki selektywności	Elektrody			
	cefazolinowa		cefradynowa	
	Rostwory		Rostwory	
$K_{\text{cef./n}}^{\text{pot.}}$	oddzielne	mieszane	oddzielne	mieszane
Cefalotyna	1.27	1.47	3.21	4.42
Cefazolina	1.0	1.0	3.15	5.12
Cefapiryna	0.61	0.52	1.81	1.51
Cefradyna	0.35	0.28	1.0	1.0
Ampicylina	0.68	0.82	1.75	1.64
Amoksycyлина	0.57	0.72	1.92	1.82
Azotany	6.20	4.12	14.2	15.21
Chlorki	0.16	0.09	0.52	0.41
Octany	0.08	0.04	0.16	0.15

Zależność SEM - t

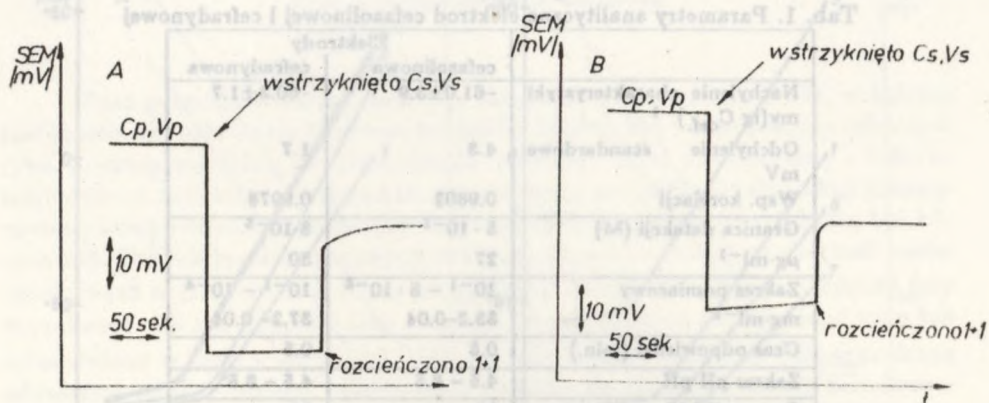
Zależność SEM-t układu elektroda cefalosporynowa - elektroda odniesienia wyznaczono metodą wstrzyknięcia stężonego roztworu standardowego do intensywnie mieszanego roztworu cefalosporyny rejestrując jednocześnie zmiany SEM badanego układu. Po wstrzyknięciu stężonego standardu badany roztwór rozcieńczano wodą w stosunku 1:1. Rostwory używane do tych badań spełniały następujące warunki:

$$c_p : c_s = 1 : 100$$

$$v_p : v_s = 20 : 1$$

gdzie v_p , c_p - objętość stężenia próbki, v_s , c_s - objętość oraz stężenie standardu.

Zmiany SEM rejestrowano na rejestratorze. Uzyskane rezultaty przedstawiono na ryc. 5.



Ryc. 5. Czas odpowiedzi elektrod cefazolinowej i cefradynowej.

A. elektroda cefazolinowa, B. elektroda cefradynowa, $c_p = 10^{-3}M$, $c_s = 10^{-1}M$, $v_p = 20$ ml, $v_s = 1$ ml, rozcieńczenie 1+1

Badane elektrody charakteryzuje dość krótki czas odpowiedzi rzędu 30-60 sek.

Zależność SEM - pH

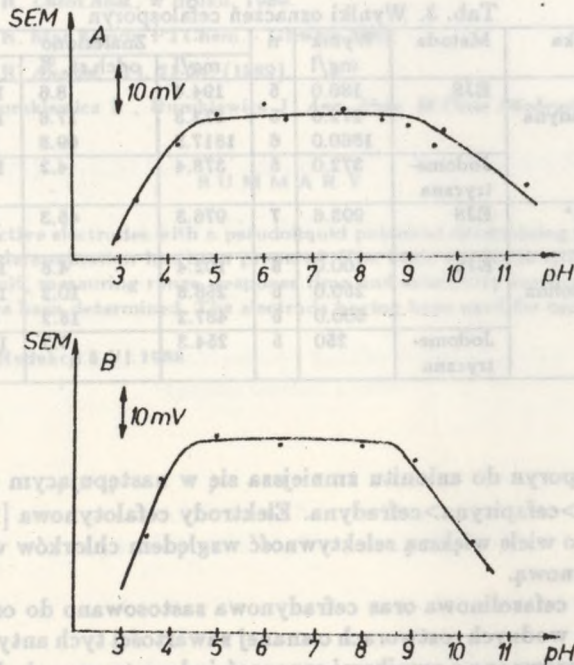
Ze względu na chemiczne właściwości cefalosporyn badano zależność SEM - pH opracowanych elektrod. W tym celu do badanej próbki ($V=20$ ml $c=10^{-3}M$) dodawano kroplami HCl lub NaOH o stężeniu $= 5 \cdot 10^{-2}M$. Po każdym dodatku kwasu lub zasady mierzono pH roztworu, SEM elektrody badanej odczytywano po ustabilizowaniu się wskazań elektrody. Krzywe obrazujące tę zależność pokazano na ryc. 6. Z przedstawionych krzywych wynika, że elektrody te mogą poprawnie pracować w zakresie $4.5 < pH < 8.5$.

Wyniki oznaczeń cefalosporyn

W celu sprawdzenia analitycznej przydatności elektrod cefazolinowej oraz cefradynowej wykonano przy ich pomocy oznaczenia odpowiednich cefalosporyn. Oznaczenia wykonano metodą "dodatek wzorca do próbki", korzystając z przyrządu Orion 901 Microprocesor Ionanalyzer.

Uzyskane wyniki oznaczeń porównano z rezultatami uzyskanymi metodą jodometryczną polecaną przez Farmakopeę.

Uzyskane rezultaty oznaczeń cefalosporyn zebrano w tabeli 3.



Ryc. 6. Zależność pH - SEM elektrod cefazolinowej i cefradynowej - A - elektroda cefazolinowa, B - elektroda cefradynowa

DYSKUSJA

W wyniku przeprowadzonych badań opracowano skład fasy potencjalotwórczej elektrod cefazolinowej oraz cefradynowej. Ze względu na bardzo sblżone właściwości chemiczne badanych cefalosporyn utrzymano stały skład ilościowy fasy membranowej tych elektrod w celu lepszego prześledzenia wpływu podstawników w cząsteczkach cefalosporyn na ich powinowactwo jonitu.

Sumaryczny efekt indukcyjny podstawników charakterystycznych dla cefazolinoliny powoduje zwiększenie oddziaływania jon cefazolinoliny - ciekły anionit (Aliquat 336) w porównaniu z oddziaływaniem cefradyny, która ma charakter soli wewnętrznej (obecność grupy aminowej i karboksylowej w cząsteczce). Z tego powodu współczynniki selektywności elektrody cefazolinowej są równo względem innych badanych cefalosporyn jak i anionów nieorganicznych są korzystniejsze w porównaniu ze współczynnikami charakteryzującymi elektrodę cefradynową. Większe od jedności współczynniki selektywności obu elektrod względem cefalotyny wskazują, że cefalotyna z podstawnikami 2 - tionylowym i acetoksymetylowym charakteryzują się większym powinowactwem do jonitu w porównaniu z cefazoliną i cefradyną. Na podstawie uzyskanych rezultatów można przyjąć, że powinowactwo

Tab. 3. Wyniki oznaczeń cefalosporyn

Próbka	Metoda	Wynik mg/l	n	Znaleziono		
				mg/l	odch.st. %	%
Cefradyna	EJS	186.0	5	194.4	8.6	104.5
		372.0	5	372.3	17.6	100.0
		1860.0	6	1817.3	69.8	97.7
	Jodometryczna	372.0	5	378.4	4.2	101.7
Sefril* kaps.	EJS	993.6	7	976.3	45.3	98.2
Cefazolina	EJS	100.0	5	102.4	4.8	102.4
		250.0	5	258.3	10.2	103.3
		500.0	5	487.2	18.2	97.4
	Jodometryczna	250	5	254.3	5.3	101.7

badanych cefalosporyn do anionitu zmniejsza się w następującym szeregu: cefalotyna > cefazolina > cefapiryna > cefradyna. Elektrody cefalotynowa [14] oraz cefazolinowa wykazują o wiele większą selektywność względem chlorków w porównaniu z elektrodą cefradynową.

Elektrody cefazolinowa oraz cefradynowa zastosowano do oznaczeń cefazolin i cefradyny w wodnych roztworach o znanej zawartości tych antybiotyków. Uzyskane rezultaty porównano z wynikami oznaczeń jodometrycznych. Wyniki oraz ich statystyczną ocenę przedstawiono w tab. 3. W obu przypadkach oznaczeń występuje zadowalająca zgodność wyników, świadcząca o analitycznej przydatności opracowanych elektrod. Stwierdzona dokładność oznaczeń jest typowa dla dokładności metod analitycznych z zastosowaniem elektrod jonoselektywnych.

Obie elektrody mogą znaleźć zastosowanie zarówno w laboratoriach przemysłu farmaceutycznego, jak również w laboratoriach badawczych, a ich stosowanie znacznie skraca czas wykonywania analiz, bez szkody dla dokładności i rzetelności oznaczeń.

L I T E R A T U R A

- [1] Abdalla M.A., Fogg A.G., Burgess C., *Analyst*, 107, 213, (1982).
- [2] Beltagy Y.A., *Zentralbl. Pharm.*, 116, 925, (1977).
- [3] Sengön F.Y., Fedai Y., *Talanta*, 33, 366, (1986).
- [4] Sengon F.J., Clas K., *Talanta*, 33, 363, (1986).
- [5] Wold J.S. Turmipsedd S.A. *Clin. Chim. Acta*, 78, 203, (1977).
- [6] Buks R.P., Maxim T.E., Allon N., Jacob T.A., Wolf J.F., *J. Chromatogr.*, 99, 609, (1974).
- [7] Hall D.A., Berry D.M., Schnieder C.J., *J. Electroanal. Chem.*, 80, 155, (1977).
- [8] Okada S., Mattori K., Takane T., *Bull. Chem. Soc., Japan*, 38, 2186, (1965).
- [9] Fogg A.J., Abdala M.A., Henriques H.P., *Analyst*, 197, 449, (1982).
- [10] Kamiński J.J., Badov N., *Inst. J. Pharm.*, 3, 151, (1979).
- [11] Dumkiewicz R. *Talanta*, 36, 4, 509-512 (1989).

- [12] Dumkiewicz R. *Chem. Anal.*, w druku, 1989.
 [13] Dumkiewicz R. *Mat. Zjazdu PTChem.* - Gliwice 1989.
 [14] Dumkiewicz R. *Analyst*, 114, 21-24, (1989).
 [15] Sykut K., Dumkiewicz R., Dumkiewicz J. *Ann. Univ. M. Curie Skłodowska, Sec. AA*, 13, 1, (1978).

ANNALES UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA

S U M M A R Y

An ion selective electrodes with a pseudoliquid potential-determining phase for cephalin and cephradine determination has been prepared. The basic electrode analytical parameters (slope, detection limit, measuring range, response time and selectivity coefficients in relation to cephalosporins) have been determined. The electrode having been used for cephalosporins determination.

Złożono w Redakcji 5 VI 1988

Wydział Chemii UMCS
 Wydział Chemii UMCS

Barbara MARCZEWSKA, Jadwiga BABA,
 Grażyna DALMATA, Kazimierz SYKUT

Wpływ wybranych amin aromatycznych na elektrowydzielanie jonów
 Zn^{2+} w aspekcie efektu cap-pair

The influence of Chosen Aromatic Amines on the Electro-reduction of Zn^{2+} in Respect
 to the Cap-pair Effect

Z wcześniejszych prac dotyczących efektu cap-pair [1,2] wynika, że związki zawierające grupy aminowe mogą przyspieszać reakcje elektrodowe. Nieleżącą pracą dotyczy wpływa niektórych amin aromatycznych na elektrowydzielanie jonów Zn^{2+} na KBR a mianowicie aniliny, p- i o-fenylenodiaminy i benzylidyny.

Związki te zostały szeroko zastosowane jako inhibitory korozji. Anilina inhibituje korozję felaru Arco w wodzie destylowanej [3] i miedzi w kwasie octowym [4]. Anilina i o-fenylenodiamina stosowane są jako inhibitory korozji stali C-95 w wodnym roztworze kwasu solnego [5], natomiast p-fenylenodiamina inhibituje korozję miedzi w środowisku alkalicznym [6]. Benzylidyna została zastosowana jako substancja poprawiająca strukturę powłok chromowych [7]. Anilina i p-fenylenodiamina przyspieszają reakcję przeniesienia ładunku w procesie utleniania uranu $U(IV) \rightarrow U(VI)$ są stosowane przy wzbogacaniu izotopów uranu [8].

O-fenylenodiamina katalizuje proces redukcji jonów Ni^{2+} i Co^{2+} w zależności od pH roztworu, co zostało wykorzystane do wyznaczenia stałej dysocjacji jej sprzężonej formy [9].

