



## ХИМИЯ

УДК 543:615.33

### ТВЕРДОКОНТАКТНЫЕ ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКИЕ СЕНСОРЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦЕФУРОКСИМ АКСЕТИЛА В ВОДНЫХ СРЕДАХ И РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ

Е. Г. Кулапина<sup>1</sup>, О. И. Кулапина<sup>2</sup>, И. К. Алиева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского

<sup>2</sup>Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского  
E-mail: kulapinaeg@mail.ru

Разработаны твердоконтактные потенциометрические сенсоры на основе органического ионообменника цефуроксим аксетила с катионами тетрадециламмония. Установлен оптимальный состав мембран. Сенсоры обеспечивают широкий диапазон определяемых содержаний антибиотика  $1 \cdot 10^{-5}$  –  $1 \cdot 10^{-2}$  М; предел обнаружения составляет  $5 \cdot 10^{-6}$  М. Показано применение твердоконтактных сенсоров для определения цефуроксим аксетила в смешанной слюне (ротовой жидкости) для корректировки и оптимизации курса лечения, а также для определения основного вещества в лекарственных препаратах.

Ключевые слова: цефуроксим аксетил, твердоконтактные потенциометрические сенсоры, водные среды, ротовая жидкость.

#### Solid-state Potentiometric Sensors for the Determination of Cefuroxime Axetil in Aqueous Media and Oral Fluid

E. G. Kulapina, O. I. Kulapina, I. K. Alieva

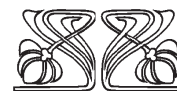
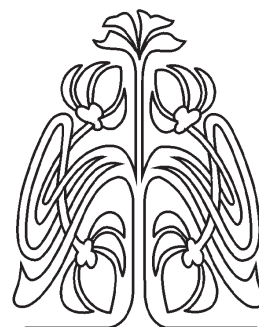
Cefuroxime axetil is a cephalosporin antibiotic of the second generation, it is used in the sequential therapy of patient with sinusitis, community-acquired pneumonia, and other infectious somatic pathologies. For the determination of cephalosporin antibiotics in different objects, spectroscopic, chromatographic, electrochemical methods, immunoassay, etc. are used, which demand for expensive devices and organic solvents. Potentiometric sensors let one expressively detect cephalosporin antibiotics in small samples without previous sample preparation. The work was aimed at the creation of solid-state potentiometric sensors for the determination of cefuroxime axetil in aqueous and biological media. The advantage of the solid contact sensors is the possibility of their application for the antibiotics determination at any spatial orientation in the samples microvolumes. Solid-state potentiometric sensors based on organic ion exchanger (cefuroxime axetil with tetradecyl cations) were developed. The optimum membrane composition was determined. The sensors provide a wide range determined by the content of the antibiotic  $1 \cdot 10^{-5}$  –  $1 \cdot 10^{-2}$  M; detection limit is  $5 \cdot 10^{-6}$  M. The sensors were used to determine the basic substance in pharmaceuticals and the cefuroxime axetil in mixed saliva (oral fluid) for adjusting and optimizing the course of treatment.

**Key words:** cefuroxime axetil solid-state potentiometric sensors, aqueous media, oral fluid.

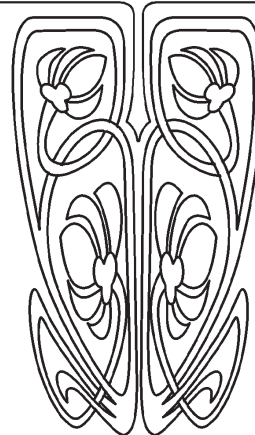
DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-2-125-131

#### Введение

Антибиотики (в переводе с греч. *anti* – приставка, означающая противодействие, и *bios* – жизнь) – вещества, синтезируемые микроорганизмами, и продукты химической модификации этих веществ, избирательно подавляющие рост патогенных микроорганизмов, низших грибов, а также некоторых вирусов и клеток злокачественных



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ





новообразований [1]. При определении эффективности применения антибиотиков учитывают их антимикробную активность в организме, скорость развития устойчивости у микроорганизмов в ходе лечения, степень проникновения в очаги поражения, возможность создания терапевтических концентраций в тканях и жидкостях больного и продолжительность их поддержания, сохранение их действия в различных условиях [2, 3].

Знание механизма действия антибиотика позволяет судить не только о направленности химиотерапевтического эффекта, но и о степени его специфичности. Так,  $\beta$ -лактамы антибиотики воздействуют на пептидогликан – опорный полимер клеточной стенки бактерий, отсутствующий у животных и человека, что определяет высокую чувствительность этих антибиотиков [4].

Существуют различные методы определения  $\beta$ -лактамов антибиотиков, в частности цефалоспоринов, в лекарственных и биологических средах: микробиологические, хроматографические, спектроскопические и электрохимические [5]. Так, микробиологические методы являются наиболее селективными, но требуют больших временных затрат. Хроматографические методы перспективны в силу низкого предела обнаружения и высокой избирательности, но требуют наличия эталонов, токсичных реагентов, а также дорогостоящего оборудования. Спектроскопические методы основаны на использовании определенных свойств антибиотиков: собственное поглощение, цветные реакции, появление или исчезновение характерных полос в УФ-видимой или ИК-областях спектра под воздействием различных реагентов.

Одним из наиболее перспективных методов определения антибиотиков в фармацевтических формах и биологических жидкостях является прямая потенциометрия и потенциометрическое титрование с использованием различных сенсоров [5]. Для определения цефалоспориновых антибиотиков предложены потенциометрические сенсоры с жидкостным заполнением [6, 7], основным недостатком которых является возможность их применения только в вертикальном положении.

Настоящее исследование посвящено разработке твердоконтактных сенсоров для определения цефуроксим аксетила в водных средах и ротовой жидкости. Достоинством твердоконтактных сенсоров является возможность их использования для определения антибиотиков при любой ориентации в пространстве в микрообъемах проб.

Выбор цефуроксим аксетила обусловлен его применением в ступенчатой терапии больных синуситами, внебольничной пневмонией и другими инфекционно-соматическими патологиями [4]. Внутримышечно вводится цефуроксим (цефуробол), а затем перорально в форме цефуроксим аксетила (Зиннат). Спектрофотометрическим методом была показана идентичность спектральных характеристик цефуроксима и цефуроксим аксетила [7]. Замена карбоксильной группы в цефуроксиме эфирным радикалом придает устойчивость цефуроксим аксетилу в желудочном соке; в кишечнике при pH 5,8–6,5 он разлагается до цефуроксима. В водном растворе цефуроксим аксетил также разлагается до цефуроксима [8].

### Экспериментальная часть

Цефуроксим аксетил (II поколение). Коммерческое название препарата: «Зиннат», фирма-производитель: GlaxoOperations UK Limited, UK, форма выпуска: таблетки по 10 штук в упаковке, состав: 1 таблетка содержит цефуроксим аксетил 250 мг и дополнительные вещества.

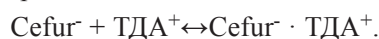
Раствор цефуроксим аксетила  $1 \cdot 10^{-2}$  М концентрации готовят путем растворения навески препарата  $m = 0,0193$  г, содержащей 0,0106 г антибиотика, в небольшом количестве дистиллированной воды, фильтруют, полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят до метки дистиллированной водой. Рабочие растворы концентрацией  $1 \cdot 10^{-3} - 1 \cdot 10^{-6}$  М готовят последовательным разбавлением исходного.

Тетрадециламмоний бромид (ТДА)  $C = 1 \cdot 10^{-2}$  М, используемый для синтеза электродноактивных компонентов, готовили по следующей методике: навеску ТДА массой 0,0329 г количественно переносили в делительную воронку и растворяли в 5 мл хлороформа.

В табл. 1 представлены названия и формулы исследуемого антибиотика и соли тетраалкиламмония.

Для изготовления **поливинилхлоридных пластифицированных мембран** в качестве инертной матрицы использовали поливинилхлорид (ПВХ) марки С-70, «ч.д.а», растворитель-пластификатор – дибутилфталат (ДФБ) и электродноактивное соединение (ЭАС).

Синтез ЭАС осуществляется по реакции обмена, представленной на схеме

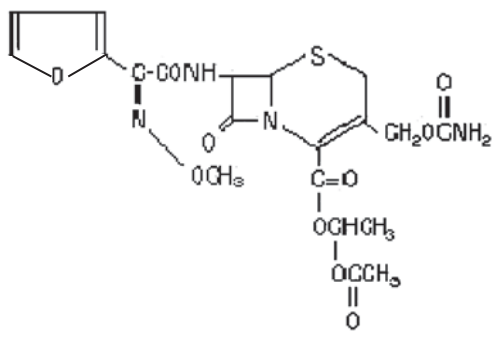
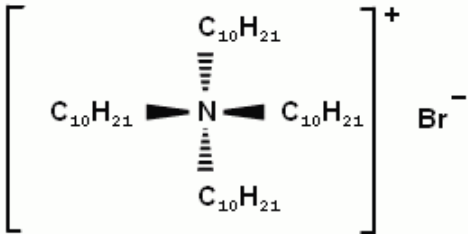


В делительную воронку помещали раствор ТДА в хлороформе ( $C = 1 \cdot 10^{-2}$  М) и водный



Таблица 1

Названия и формулы исследуемого антибиотика и соли тетраалкиламмония

Вещество	Сокращение	Формула	М, г/моль
Цефуроксим ацетил	Cefur		510
Тетрадециламмоний бромид	ТДА <sup>+</sup>		657,5

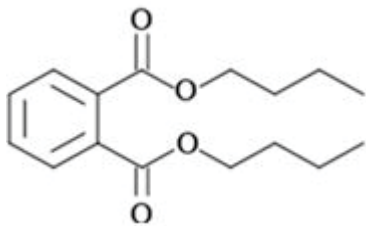
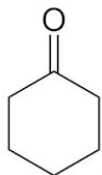
раствор антибиотика ( $C = 1,5 \cdot 10^{-2}$  М). Соотношение растворов по объему «антибиотик–соль тетраалкиламмония» равно 1:2. Смесь встряхивали в течение двух часов, образовавшийся хлороформный слой отделяли от водной фазы в предварительно взвешенный бюкс, испаряли хлороформ на водяной бане при температуре 50–60°C с целью избежания разложения электро-одноактивного вещества.

В табл. 2 представлены формулы веществ, используемых для изготовления мембран.

**Приготовление пластифицированных мембран** осуществляли по следующей методике: навески электро-одноактивного соединения и растворителя-пластификатора дибутилфталата помещали в бюкс, в который при непрерывном перемешивании на магнитной мешалке добавляли 2 мл циклогексанона и небольшими порциями навеску поливинилхлорида (соотношение ПВХ : ДБФ по массе равно 1:3). Полученную смесь тщательно перемешивали до полной гомогенизации, после чего выливали в чашку

Таблица 2

Вещества, используемые для изготовления мембран

Вещество	Сокращение	Формула
Электро-одноактивное соединение	ЭАС	Cefur-ТДА
Поливинилхлорид	ПВХ	$(-CH_2CHCl-)_n$
Дибутилфталат	ДБФ	
Циклогексанон	ЦГ	



Петри на ровную горизонтальную поверхность для получения готовой мембраны одинаковой толщины и оставляли на воздухе до полного удаления циклогексанона. В результате получали эластичные и прозрачные мембраны толщиной порядка 0,5 мм.

В табл. 3 приведены данные для приготовления поливинилхлоридной мембраны.

Таблица 3

Данные для приготовления поливинилхлоридной мембраны

ЭАС	Концентрация ЭАС, %	Навески, г			d, мм
		ЭАС	ДБФ	ПВХ	
Cefur-ТДА	5,35	0,06	0,7966	0,2655	67

**Изготовление твердоконтактных электродов.** В работе использовались твердоконтактные электроды с пластифицированными мембранами (рис. 1).

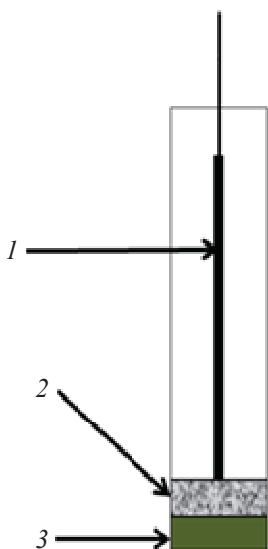


Рис. 1. Конструкция твердоконтактного электрода: 1 – электронный проводник (Cu), 2 – графит, 3 – чувствительная мембрана

В качестве электронного проводника был использован графит. Данный электрод представляет собой поливинилхлоридную трубку, внутри которой находится стержень из графита с прикрепленным к нему проводом, служащим токоотводом. В свою очередь, стержень приклеивается внутри корпуса с помощью эпоксидной смолы, выполняющей изоляционные функции. К тщательно отшлифованному торцу поливинилхлоридной трубки приклеивали ионоселективные мембранные диски, диаметр которых соответствовал диаметру трубки. Клей представляет

собой смесь поливинилхлорида, дибутилфталата и циклогексанона (соотношение ПВХ : ДБФ по массе равно 1:3).

**Подготовка сенсоров к работе.** Ионоселективные электроды требуют предварительного кондиционирования, так как отклик некондиционированных электродов замедлен и плохо воспроизводим. Для этого перед работой электроды кондиционировали в  $1 \cdot 10^{-3}$  М растворе антибиотика в течение суток.

Электрохимические характеристики сенсоров изучают методом ЭДС с использованием элемента с переносом:

$\text{Ag, AgCl, KCl}_{\text{нас}} / \text{исслед. раствор} / \text{мембрана} / \text{C}$ .

Контакт между полуэлементами осуществляют с помощью солевого мостика, заполненного насыщенным раствором хлорида калия.

ЭДС цепи измеряют на иономере И-160 М при температуре  $20 \pm 3^\circ\text{C}$  (погрешность измерения ЭДС  $\pm 1\text{ мВ}$ ). В качестве индикаторного используют твердоконтактный электрод собственного изготовления, электрод сравнения – стандартный хлоридсеребряный ЭВЛ-1МЗ. Измерения ЭДС в анализируемых растворах проводят от меньшей концентрации к большей. Для ускорения достижения устойчивого значения потенциала внешний раствор перемешивают на магнитной мешалке.

Время установления стационарного потенциала сенсоров проводили при скачкообразном изменении концентраций на порядок; измерения проводили в растворах с концентрацией  $1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-2}$  М.

Для отделения белковых компонентов из смешанной слюны использовали центрифугу ТУ 5.375-4262-76, ОПн-8УХЛ4.2, №4835.

### Результаты и их обсуждение

Для построения электродной функции использовали  $1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-6}$  М стандартные растворы цефуроксимаксетила, которые готовили из  $1 \cdot 10^{-2}$  М раствора последовательным разбавлением в мерных колбах вместимостью 25 мл. Измерение ЭДС проводили через 1,5–2,5 мин от меньших концентраций к большим (рис. 2).

Из рис. 2 видно, что исследуемый сенсор на основе Cefur-ТДА обладает чувствительностью к цефуроксимаксетилу в широком концентрационном интервале.

Потенциалоопределяющей является реакция ионного обмена на границе раздела мембрана/раствор (предварительно происходит диссоциация ионообменника в фазе мембраны):

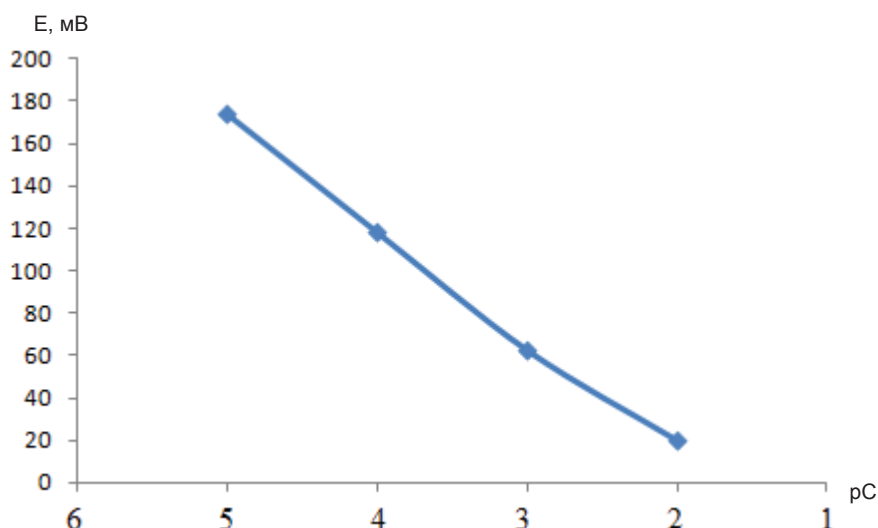
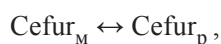


Рис. 2. Электродная функция твердоконтактного сенсора на основе Cefur-ТДА в растворах цефуроксим аксетила

$Cefur^- \cdot TDA^+ \leftrightarrow Cefur^- + TDA^+$   
(диссоциация ионообменника в фазе мембраны),



$$E = E_0 - 0,059/n \cdot \lg C_{Cefur}.$$

По зависимости  $E = f(C_{Cefur})$  определен предел обнаружения цефуроксим аксетила ( $5 \cdot 10^{-6}$  М).

Дрейф потенциала составил 2–4 мВ/сут. Как известно, дрейф потенциала ИСЭ обусловлен изменением в структуре поверхности электрода и растворением ионообменника в исследуемом растворе.

Для определения срока службы электродов снимались электродные функции сенсора

в свежеприготовленных растворах антибиотика на протяжении длительного времени и по изменению угла наклона электродной функции судили о чувствительности данного электрода к антибиотику. Показано, что электрод на основе Cefur-ТДА обладает стабильными электрохимическими и операционными характеристиками в течение 2 месяцев.

В табл. 4 представлены основные электроаналитические и операционные характеристики твердоконтактных сенсоров в растворах цефуроксим аксетила. Твердоконтактные сенсоры имеют ряд преимуществ по сравнению с жидкоконтактными [6]: более широкий диапазон линейности электродных функций, низкий предел обнаружения ( $5 \cdot 10^{-6}$  М).

Таблица 4

Электрохимические и операционные характеристики твердоконтактных сенсоров в растворах цефуроксимаксетила ( $n = 3, p = 0,95$ )

ЭАС	$E = f(C), M$	$S, mV/pC$	$\tau, мин$	ПрО, М	$\Delta E, мВ/сут$	Срок службы, мес.
Cefur-ТДА	$1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-2}$	$52 \pm 4$	1–2	$5 \cdot 10^{-6}$	2–4	2

Твердоконтактные сенсоры на основе Cefur-ТДА использованы для определения цефуроксим аксетила в водных средах с внесенными добавками антибиотика (табл. 5).

Данные табл. 5 свидетельствуют о соответствии введенных и найденных содержаний антибиотика в модельных растворах; относительная погрешность определения не превышает 6,6%.

#### Электроаналитические характеристики сенсоров на фоне ротовой жидкости

Авторами [6, 7] было показано, что величины коэффициентов потенциометрической селективности цефуроксимаксетила по отношению к неорганическим ионам ( $Cl^-, Br^-, I^-, HCO_3^-, H_2PO_4^-, HPO_4^-, NO_3^-$ ), входящим в состав ротовой жидкости составляют  $5 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-1}$ . Последнее свидетельствует о возможности определения антибиотиков





Таблица 5

Результаты ионометрического определения цефуроксим аксетила в водных растворах ( $n = 3, p = 0,95, V = 10$  мл)

Введено				Найдено				
$C_x$	$V$ , мл	$C$ , моль/л	$m$ , мг	$E$ , мВ	$pC$	$C$ , моль/л	$m$ , мг	$D$ , %
$10^{-2}$	3	$3 \cdot 10^{-3}$	15,3	103,1	2,5	$3,2 \cdot 10^{-3}$	$16,3 \pm 0,4$	6,5
$10^{-2}$	2	$2 \cdot 10^{-3}$	10,2	110,5	2,7	$1,91 \cdot 10^{-3}$	$9,7 \pm 0,3$	4,9
$10^{-3}$	3	$3 \cdot 10^{-4}$	1,5	136,8	3,5	$3,16 \cdot 10^{-4}$	$1,6 \pm 0,1$	6,6

в присутствии значительных избытков неорганических ионов, что делает возможным применение сенсоров в анализе биосред.

В качестве объекта исследования была выбрана жидкость ротовой полости (ЖРП). Анализ слюны представляет собой одну из наиболее значительных альтернатив анализу крови. Преимущества ротовой жидкости (смешанной слюны) как объекта анализа состоят в доступности, простоте взятия проб для исследования фармакокинетики лекарственных веществ, оптимизации курса лечения различных патологических процессов [9, 10].

Пробу ЖРП здорового человека отбирали спустя 1–2 часа после приема пищи, перед сбором ротовую полость ополаскивали водой. Смешанную слюну центрифугировали в течение 15 мин при 3500 об/мин. Для определения цефуроксим аксетила в ЖРП индикаторный электрод предварительно кондиционировали в ЖРП здорового человека в течение 20–30 мин.

Для приготовления серии растворов цефуроксим аксетила на фоне ЖРП с внесенными добавками антибиотика отбирали 0,3 мл водных растворов антибиотика соответствующих концентраций (внесенные добавки) и до 3 мл добавляли надосадочной жидкости ЖРП,

перемешивали и проводили измерение ЭДС. Строили зависимость ЭДС, мВ –  $-\lg C_{\beta\text{-lac}}$ .

Установлено уменьшение интервала линейности и углового коэффициента электродных сенсоров в ЖРП вследствие высокой ионной силы раствора и «белкового отравления» поверхности мембран. Так, в растворах цефуроксим аксетила на фоне ЖРП электродная функция выполняется в интервале  $1 \cdot 10^{-2} - 5 \cdot 10^{-5}$  М, угловой коэффициент составляет  $(49 \pm 3)$  мВ/рС. Для ионометрического определения антибиотика нет необходимости проводить осаждение белков.

Твердоконтактные сенсоры применены для определения цефуроксим аксетила в модельных растворах с внесенными добавками антибиотика на фоне ротовой жидкости.

С учетом сложности анализируемых объектов и самого определяемого вещества достоверность полученных результатов оценивалась следующим образом. В пробу ЖРП здорового человека вводили определенную добавку стандартного раствора цефуроксим аксетила и далее пробу проводили через все операции пробоподготовки. В табл. 6 представлены результаты определения антибиотика в модельных растворах на фоне ЖРП. Относительные погрешности определения не превышают 12%.

Таблица 6

Результат ионометрического определения цефуроксимаксетила на фоне ЖРП ( $V = 3$  мл,  $n = 3, p = 0,95$ )

Введено				Найдено				
$C_x$	$V$ , мл	$C$ , моль/л	$m$ , мг	$E$ , мВ	$pC$	$C$ , моль/л	$m$ , мг	$D$ , %
$10^{-2}$	0,3	$3 \cdot 10^{-3}$	4,6	81,3	2,5	$3,3 \cdot 10^{-3}$	$5,1 \pm 0,4$	10,8
$10^{-2}$	0,2	$2 \cdot 10^{-3}$	3,1	89,5	2,75	$1,8 \cdot 10^{-3}$	$2,8 \pm 0,2$	9,6
$10^{-3}$	0,3	$3 \cdot 10^{-4}$	0,5	111,7	3,5	$3,2 \cdot 10^{-4}$	$0,48 \pm 0,1$	4,0

Таким образом, твердоконтактные сенсоры на основе *Sefur*-ТДА позволяют проводить определение цефуроксим аксетила в водных и биологических средах, могут быть использованы для определения основного вещества в лекарственных препаратах, контроля содержания антибиотика в ротовой жидкости для корректировки и оптимизации курса лечения.

### Список литературы

1. Стратегия и тактика рационального применения антимикробных средств в амбулаторной практике : Российские практические рекомендации / под ред. С. В. Яковлева, В. В. Рафальского, Т. В. Спичак. М. : Изд-во «Пре100принт», 2014. 121 с.
2. Белоусов Ю. Б., Ушкалова Е. А. Формулярная система



- в антибактериальной терапии // Антибиотики и химиотерапия. 2001. Т. 46, № 11. С. 23–35.
3. Рациональная фармакотерапия часто болеющих детей : пособие для врачей / под ред. М. Г. Романцова. СПб. : Литтерра, 2006. 118 с.
  4. Суворова М. П., Яковлев С. В. Современное значение пероральных цефалоспоринов // Инфекции и антибиотикотерапия. 2002. Т. 4, № 4. С. 53–61.
  5. Кулапина О. И., Кулапина Е. Г. Антибактериальная терапия. Современные методы определения антибиотиков в лекарственных и биологических средах. Саратов: Изд-во «Саратовский источник», 2015. 91 с.
  6. Кулапина О. И., Макарова Н. М., Кулапина Е. Г. Потенциометрические сенсоры для определения некоторых цефалоспориновых антибиотиков в биологических и лекарственных средах // Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70, № 4. С. 399–406.
  7. Кулапина О. И., Михайлова М. С., Кулапина Е. Г. Ионметрическое определение цефуроксима и цефуроксимаксетила в биологических и лекарственных средах // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2013. Т. 13, вып. 3. С. 40–46.
  8. Машковский М. Д. Лекарственные средства : в 2 ч. М. : Новая волна, 2014. 1216 с.
  9. Вавилова Т. П., Янушевич О. О., Островская И. Г. Слюна. Аналитические возможности и перспективы. М. : БИНОМ. 2014. 312 с.
  10. Григорьев И. В., Чиркин А. А. Слюна как предмет лабораторной диагностики // Мед. новости. 1998. № 4. С. 9–12.

**Образец для цитирования:**

Кулапина Е. Г., Кулапина О. И., Алиева И. К. Твердоконтактные потенциометрические сенсоры для определения цефуроксим аксетила в водных средах и ротовой жидкости // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 2. С. 125–131. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-2-125-131.

**Cite this article as:**

Kulapina E. G., Kulapina O. I., Alieva I. K. Solid-state Potentiometric Sensors for the Determination of Cefuroxime Axetil in Aqueous Media and Oral Fluid. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 2, pp. 125–131 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-2-125-131.