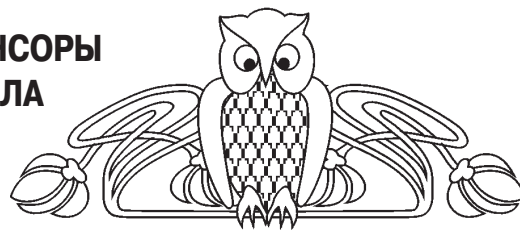




УДК 543.554.615.33

ПЛАНАРНЫЕ ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКИЕ СЕНСОРЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦЕФУРОКСИМ АКСЕТИЛА В МАЛЫХ ОБЪЕМАХ ПРОБ

Е. Г. Кулапина, О. И. Кулапина



Кулапина Елена Григорьевна, профессор кафедры аналитической химии и химической экологии, Институт химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, доктор химических наук. E-mail: kulapinaeg@mail.ru

Кулапина Ольга Ивановна, доцент кафедры детских болезней, лечебный факультет, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского. E-mail: olgakulapina@mail.ru

Разработаны планарные потенциометрические сенсоры, чувствительные к цефуроксим аксетилу, установлен оптимальный состав мембран и углеродсодержащих чернил. Определены основные электроаналитические и операционные характеристики сенсоров. Показана возможность применения сенсоров для определения цефуроксим аксетила в модельных водных растворах и на фоне ротовой жидкости в малых объемах проб. Модернизация конструкций сенсоров открывает новые возможности их применения для исследований фармакокинетики антибиотиков по анализу смешанной слюны на их содержание, оптимизации корректировки курса лечения различных патологических процессов.

Ключевые слова: планарные «screen-printed» сенсоры, цефуроксим аксетил, потенциометрия, модельные водные растворы, смешанная слюна.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-274-279

Введение

Антибиотики принадлежат к самым различным классам химических соединений; наиболее значимые β -лактамы антибиотики (пенициллины и цефалоспорины).

Беталактамы (β -лактамы антибиотики, β -лактамы) – большая группа антибиотиков, которых объединяет наличие в структуре β -лактамного кольца, отвечающего за антимикробную активность, при разрушении которого антимикробная активность препарата теряется.

С учётом высокой клинической эффективности и низкой токсичности β -лактамы антибиотики составляют основу антимикробной химиотерапии на современном этапе, занимая ведущее место при лечении большинства инфекций [1, 2].

Наряду с цефалоспориновыми антибиотиками всех поколений наиболее широко в амбулаторной практике применяются пероральные цефалоспорины II поколения. Замена в цефуроксиме карбокси группы более сложным эфирным

радикалом позволило получить соединение, устойчивое в кислом содержимом желудка и разлагающееся в кишечнике с высвобождением активного цефуроксима. После приема внутрь цефуроксим аксетил медленно всасывается из желудочно-кишечного тракта и быстро гидролизуются в слизистой оболочке тонкой кишки и в крови с высвобождением цефуроксима [3]. Так, цефуроксим аксетил в настоящее время рассматривается как основной препарат для лечения любых внебольничных респираторных инфекций, причем при внебольничной пневмонии и хроническом бронхите он является препаратом выбора. Высокая эффективность цефуроксим аксетил отмечена у детей и взрослых с острым средним отитом, а также при стрептококковом тонзиллите, фарингите и синусите. Цефуроксим аксетил может назначаться при стафилококковых инфекциях кожи и мягких тканей (мастит, фурункулы), а также при внебольничных инфекциях мочевыводящих путей, главным образом пиелонефрите [4].

Потенциометрические сенсоры позволяют экспрессно детектировать β -лактамы антибиотики [5]. Современные сенсорные технологии позволяют модернизировать конструкции сенсоров. Так, по технологии трафаретной печати возможно изготовление планарных («screen-printed») сенсоров, обладающих малыми размерами, что позволяет использовать их для количественного определения веществ в микрообъемах проб в режиме on-line.

Планарные сенсоры на основе разнообразных материалов применены для электрохимических определений различных органических соединений, при мониторинге объектов окружающей среды, анализе биологических сред, лекарственных препаратов, пищевых продуктов и др. [6–8]. Ряд исследований показывает, что на электрохимические характеристики сенсоров влияют способы их изготовления, составы мембран [9–11]. Авторами [12, 13] разработаны оптимальные конструкции планарных сенсоров, селективных к поверхностно-активным веществам. Определены составы мембран и углеродсодержащих чернил, пока-



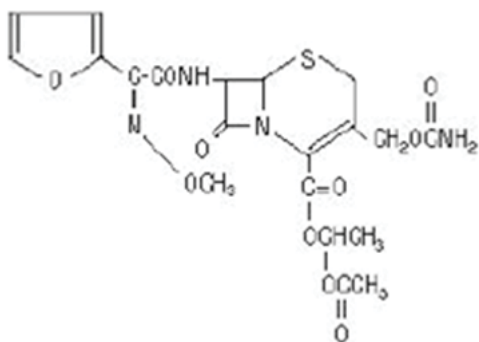
зано применение сенсоров для тест-контроля содержания ПАВ в микрообъемах проб.

Для изучения фармакокинетики антибиотиков, выбора терапевтической дозы препаратов, корректировки процесса лечения необходимо совершенствование методик определения антибиотиков по различным критериям: снижение трудоемкости, быстрый отклик при мониторинге по типу on-line, надежность, селективность определения и повышение его чувствительности, снижение финансовых затрат, повышение производительности для охвата большего числа пациентов и т.д. В этом плане заслуживает внимание анализ смешанной слюны – жидкости ротовой полости в связи с неинвазивностью взятия проб, многократностью и почти неограниченного объема забора материала [14].

Цель настоящего исследования заключалась в разработке планарных сенсоров для экспрессного определения цефуроксим аксетила в водных средах и в жидкости ротовой полости в малых объемах проб.

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 аксетила 250 мг и дополнительные вещества.



Определение основного вещества в препарате «Зиннат» и отделение вспомогательных веществ проведено по методике [15].

Раствор цефуроксимаксетила $1 \cdot 10^{-2}$ 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.

Синтез электроактивного вещества цефуроксим-тетрадециламмоний (Cefur-ТДА), изготовление мембран потенциметрических сенсоров описано в работе [16].

Изготовление сенсоров методом трафаретной печати. В качестве основы сенсоров были разработаны планарные структуры, изготовленные по методу трафаретной печати. Для изготовления рабочего электрода использовали подложку с графитовыми чернилами, содержащими электродно-активное вещество, и токоотвод. На рис. 1 представлена конструкция планарного сенсора, изготовленного по методу трафаретной печати.

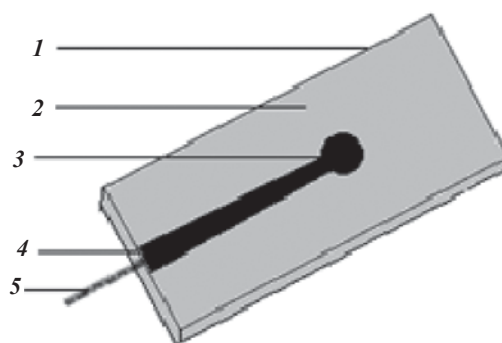


Рис. 1. Конструкция сенсора, изготовленного по методу трафаретной печати: 1 – полимерная подложка, 2 – изоляционный слой, 3 – рабочая область, 4 – графитовые чернила, 5 – токоотвод

Рабочую поверхность подложки смазывали изолятором, в качестве которого выступал клей, изготовленный из ПВХ, дибутилфталата и циклогексанона. После высыхания с помощью трафарета на подложку кисточкой наносили слой токопроводящих чернил, на котором закрепляли металлический токоотвод. Токоотвод изолировали тремя слоями чернил. Вся поверхность полимерной подложки, кроме рабочей поверхности, изолировалась полимерным составом на основе ПВХ [12, 13].

Приготовление углеродсодержащих чернил осуществляли по следующей методике: навески электродно-активного соединения (ЭАС), пластификатора дибутилфталата (ДБФ) и порошка углерода помещали в бокс, в который при непрерывном перемешивании на магнитной мешалке и при небольшом нагревании добавляли 2 мл растворителя (смесь ацетона и циклогексанона в соотношении 1:1) и небольшими порциями навеску ПВХ. Полученную смесь тщательно перемешивали до полной гомогенизации.

Готовые углеродсодержащие чернила наносились кисточкой с помощью трафарета на



полиэфирную подложку. Общая площадь чернил и рабочая площадь поверхности составили 1 см² и 0,04 см² соответственно. Перед работой электроды кондиционировали в 10⁻³М растворе антибиотика в течение суток.

В табл. 1 приведены данные для приготовления углеродсодержащих чернил.

Таблица 1

Данные для приготовления углеродсодержащих чернил

| ЭАС | Навески, г | | | |
|-----------|------------|--------|-------------|--------|
| | ЭАС | ДФФ | С (порошок) | ПВХ |
| Cefur-ТДА | 0,0200 | 0,1818 | 0,3091 | 0,5091 |

Электрохимические характеристики изучают методом ЭДС с использованием элемента с переносом:



Контакт между полуэлементами осуществляют с помощью солевого мостика, заполненного насыщенным раствором хлорида калия, техника измерений ЭДС описана в работе [16].

Время установления стационарного потенциала сенсоров определяли при скачкообразном изменении концентраций на порядок. Измерения проводили в растворах с концентрацией 1 · 10⁻⁵ – 1 · 10⁻² М.

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

Пробу жидкости ротовой полости (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. При использовании электродов для определения цефуроксим аксетила в ЖРП индикаторный электрод предварительно кондиционировали в ЖРП здорового человека в течение 20–30 мин.

Результаты и их обсуждение

Современным вариантом электрохимических датчиков являются так называемые «screen-printed» электроды, так как они обладают рядом преимуществ: высокая чувствительность, селективность, хорошая воспроизводимость измерений, возможность применения для определения веществ в микрообъемах проб. Доступная технология изготовления (метод трафаретной печати) дает возможность производить большое количество одноразовых сенсоров низкой стоимости и любой конфигурации.

В ходе данного исследования была оценена работа планарного сенсора на основе Cefur-ТДА в растворах цефуроксим аксетила.

На рис. 2 представлена зависимость ЭДС от отрицательного логарифма концентрации антибиотика.

Интервал линейности электродной функции составил 1 · 10⁻² – 1 · 10⁻⁵ М, предел обнаружения цефуроксим аксетила 7 · 10⁻⁶ М.

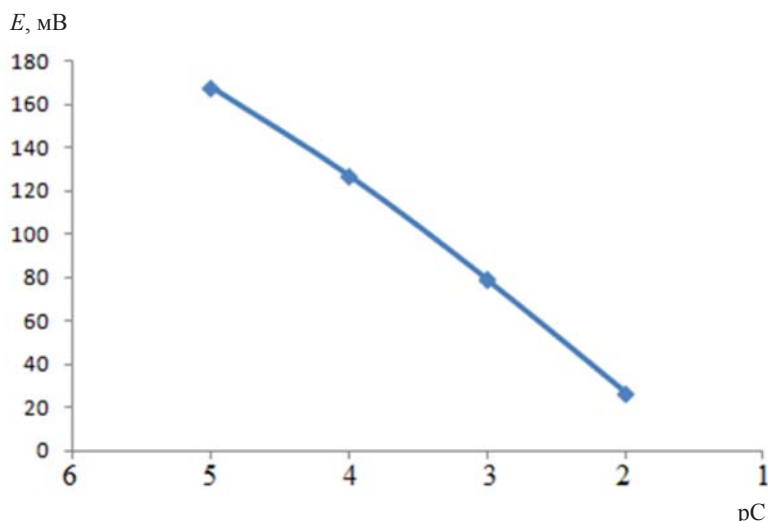
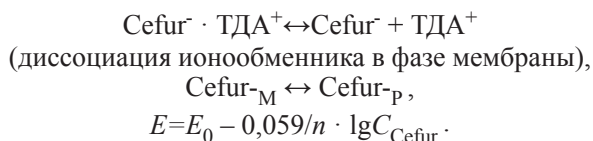


Рис. 2. Электродная функция планарного сенсора на основе Cefur-ТДА в растворах цефуроксимаксетила

Потенциалопределяющей является реакция ионного обмена на границе мембрана/раствор, с предварительно происходящей диссоциацией ионообменника в фазе мембраны:





Определены основные электрохимические и операционные характеристики планарного сенсора в растворах цефуроксим ацетила (угловой коэффициент электродных функций S , время отклика, дрейф потенциала, срок службы). Время отклика сенсоров в растворах антибиотика составил 1–2 мин; дрейф по-

тенциала – 2–4 мВ/сут, срок службы – 2 мес.

Таким образом, планарные сенсоры на основе Cefur-ТДА проявляют чувствительность к цефуроксим ацетилу, что свидетельствует о возможности применения сенсоров для определения антибиотика в водных средах (табл. 2).

Таблица 2

Результаты определения цефуроксим ацетила в модельных водных растворах ($V = 3$ 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 | $3 \cdot 10^{-3}$ | 15,3 | 84,6 | 2,55 | $2,8 \cdot 10^{-3}$ | $14,3 \pm 0,4$ | 6,1 |
| 10^{-2} | 0,2 | $2 \cdot 10^{-3}$ | 10,2 | 88,4 | 2,65 | $2,2 \cdot 10^{-3}$ | $11,4 \pm 0,6$ | 12,0 |
| 10^{-3} | 0,3 | $3 \cdot 10^{-4}$ | 1,5 | 107,2 | 3,48 | $3,3 \cdot 10^{-4}$ | $1,7 \pm 0,2$ | 10,5 |

Величины Ki/j сенсоров к другим цефалоспориновым антибиотикам – цефазолину, цефалексину, цефтриаксону, к неорганическим ионам определяли методами бионных потенциалов и смешанных растворов. Выбор мешающих неорганических ионов обусловлен составом ротовой жидкости. Полученные величины Ki/j свидетельствуют о возможности определения индивидуальных цефалоспориновых антибиотиков или их суммарного содержания в присутствии значительных избытков неорганических ионов, что делает возможным применение сенсоров в анализе биологических сред [5, 17].

Характеристики сенсоров на фоне смешанной слюны

Ротовая жидкость является сложным фильтратом плазмы крови, отражает состояние

динамического постоянства внутренней среды организма. В то же время ротовая жидкость может весьма значительно меняться по составу, физико-химическим и биологическим свойствам при воздействии самых разных стимулов, то есть является индикатором реактивности организма. Слюна – единственная биологическая жидкость с уникальным набором исследовательских возможностей, предусматривающих полную неинвазивность, многократный и почти неограниченный по объему забор материала [18].

На рис. 3 представлена зависимость ЭДС планарного сенсора от отрицательного логарифма концентрации цефуроксим ацетила на фоне ротовой жидкости (для сравнения приведена аналогичная зависимость для твердоконтактного сенсора).

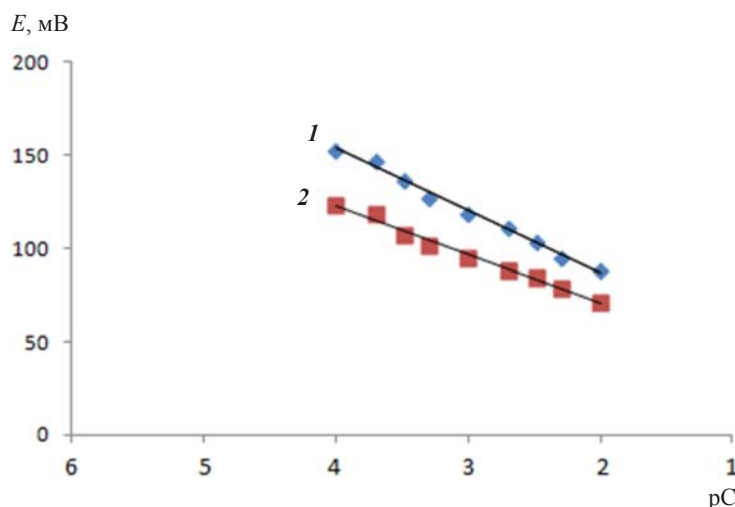


Рис. 3. Электродные функции твердоконтактного (1), планарного (2) сенсоров в растворах антибиотика на фоне ЖРП



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 измеряли ЭДС для построения зависимости ЭДС, мВ – $-\lg C_{\beta\text{-лак}}$.

Электродные функции сенсоров на фоне ЖРП проявляются в той же области, что и в водных растворах антибиотика. Полученные градуировочные графики являются воспроизводимыми и увеличение времени кондиционирования сенсоров не влияет на них. Проведено ионометрическое определение цефуроксим аксетила на фоне ЖРП с внесенными добавками антибиотика (табл. 3).

Таблица 3

Результаты определения цефуроксим аксетила на фоне ЖРП ($V = 3\text{мл}$, $n = 3$, $P = 0,95$)

| 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 | 70,1 | 2,55 | $2,8 \cdot 10^{-3}$ | $4,3 \pm 0,2$ | 6,8 |
| 10^{-2} | 0,2 | $2 \cdot 10^{-3}$ | 3,1 | 74,8 | 2,75 | $1,8 \cdot 10^{-3}$ | $2,8 \pm 0,2$ | 11,1 |
| 10^{-3} | 0,3 | $3 \cdot 10^{-4}$ | 0,5 | 89,3 | 3,5 | $3,2 \cdot 10^{-4}$ | $0,46 \pm 0,1$ | 8,0 |

Относительные погрешности определения не превышают 12%.

Таким образом, изготовленные методом трафаретной печати планарные сенсоры на основе Cefur-ТДА могут быть применены для определения цефуроксим аксетила в водных и биологических средах, а также в лекарственных препаратах в малых объемах проб.

Список литературы

1. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках. М.: Наука, 2004. 528 с.
2. Страчунский Л. С., Козлов С. Н. Современная антимикробная химиотерапия. М.: Боргес, 2001. 432 с.
3. Машковский М. Д. Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2014. Ч. 1, 2. 1216 с.
4. Яковлев С. В., Суворова М. П., Дворецкий Л. И., Власенко Н. А., Шахова Т. В. Ступенчатая терапия внебольничной пневмонии. Результаты исследования цефуроксима и цефуроксим аксетила // Антибиотики и химиотерапия. 1998. № 6. С. 7–11.
5. Кулапина Е. Г., Макарова Н. М., Кулапина О. И., Утц И. А., Барагузина В. В. Потенциометрические сенсоры с пластифицированными поливинилхлоридными мембранами, селективные к антибиотикам пенициллинового ряда: свойства, применение // Мембраны и мембранные технологии. 2011. Т. 1, № 4. С. 243–248.
6. Li M., Li Y.-T., Li D.-W., Long Y. T. Recent developments and applications of screen-printed electrodes in environmental assays // Anal. Chim. Acta. 2012. Vol. 734. P. 31–34.
7. Alonso-Lomillo M. A., Domínguez-Renedo O., Arcos-Martínez M. J. Screen-printed biosensors in microbiology // Talanta. 2010. Vol. 82, № 5. P. 1629–1636.
8. Honeychurch K. C., Hart J. P. Screen-printed electrochemical sensors for monitoring metal pollutants // Trac-Trend Anal. Chem. 2003. Vol. 22, № 7. P. 456–469.
9. Gornall D. D., Collyer S. D., Higson S. P. J. Investigations into the use of screen-printed carbon electrodes as templates for electrochemical sensors and sonochemically fabricated microelectrode arrays // Sensor. Actuat. B-Chem. 2009. Vol. 141, № 2. P. 581–591.
10. Wang J., Tian B., Nascimento V. B., Agnes L. Performance of screen-printed carbon electrodes fabricated from different carbon inks // Electrochim. Acta. 1998. Vol. 43, № 23. P. 3459–3465.
11. Trojanowicz M. Impact of nanotechnology on design of advanced screen-printed electrodes for different analytical applications // Trends in Anal. Chem. 2016. Vol. 84. P. 22–34.
12. Макарова Н. М., Кулапина Е. Г. Планарные электроды на основе углеродных нанотрубок для потенциометрического определения гомологов алкилсульфатов натрия // Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70, № 7. С. 764–769.
13. Макарова Н. М., Кулапина Е. Г. Планарные потенциометрические сенсоры на основе углеродных материалов для определения додецилсульфата натрия // Электрохимия. 2015. Т. 51, № 7. С. 757–764.
14. Вавилова Т. П., Медведев А. Е. Биологическая химия. Биохимия полости рта. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 560 с.
15. Кулапина Е. Г., Каренко В. А., Кулапина О. И. Определение основного вещества в препаратах цефалексина и цефуроксимаксетила // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, вып. 1. С. 25–27.
16. 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.
17. 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.

18. Постнова Ю. А., Мулик В. В., Новочадов В. В., Мулик А. Б., Назаров Н. О., Фролов Д. М. Ротовая жидкость как объект оценки состояния организма человека // Вестн. Волгогр. гос. ун-та. Сер. 3. Экономика. Экология. 2011. № 1 (18). С. 246–253.

Screen-printed Potentiometric Sensors for Cefuroxime Axetil Determination in Small Sample Volumes

E. G. Kulapina, O. I. Kulapina

Elena G. Kulapina, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, kulapinaeg@mail.ru

Olga I. Kulpina, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, 112, B. Kazachya Str., Saratov, 410012, Russia, olgakulapina@mail.ru

Potentiometric screen-printed cefuroxime axetil sensors were developed. The optimum membrane and carbon ink compositions were determined. The main sensor electroanalytical and operational characteristics were evaluated. The sensors were used to determination of cefuroxime axetil in small sample volumes of model water solutions and mixed saliva (oral fluid). Upgrading sensor designs opens up new sensor application for pharmaceutical kinetic antibiotic studies on the mixed saliva analysis and correction treatment of various pathological processes.

Key words: screen-printed sensors, cefuroxime axetil, potentiometry, model water solutions, mixed saliva.

Образец для цитирования:

Кулапина Е. Г., Кулапина О. И. Планарные потенциометрические сенсоры для определения цефуроксим аксетила в малых объемах проб // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 2. С. 274–279. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-274-279.

Cite this article as:

Kulapina E. G., Kulapina O. I. Screen-printed Potentiometric Sensors for Cefuroxime Axetil Determination in Small Sample Volumes. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 2, pp. 274–279 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-274-279.