

Министерство образования и науки Российской Федерации

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра аналитической химии и химической экологии

**ИОНОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦЕФУРОКСИМ АКСЕТИЛА
В ВОДНЫХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студентки IV курса 411 группы
направления 04.03.01 Химия

Института химии
Алиевой Ирины Каиркановны

Научный руководитель
профессор, д.х.н., профессор

подпись, дата

Е.Г. Кулапина

Зав. кафедрой
д.х.н., доцент

подпись, дата

Т.Ю. Русанова

Саратов 2016

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Химический анализ для целей медицинской диагностики – неотъемлемая часть деятельности специалистов, призванных осуществлять контроль здоровья населения. В настоящее время существует огромное количество методик, позволяющих определить многие заболевания еще на начальной стадии и в очень короткий срок.

Определение содержания антибиотиков в различных объектах является одной из важных и актуальных проблем современной аналитической химии. 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.

В связи с этим возникает необходимость в изучении роли химического анализа в медицинской диагностике, в анализе биологических жидкостей и в установлении методов определения антибиотиков в лекарственных и биологических средах. Выбор цефуроксим аксетила обусловлен его применением в ступенчатой терапии больных синуситами, внебольничной пневмонией и другими инфекционно-соматическими патологиями. Внутримышечно вводится цефуроксим, а затем перорально в форме цефуроксим аксетила (Зиннат). 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.

Цель работы заключалась в разработке экспрессных ионометрических

методик определения цефуроксим аксетила в водных и биологических средах, в частности, жидкости ротовой полости.

Достижение поставленной цели предусматривало решение следующих задач:

- синтез электродноактивного вещества – соединения тетрадециламмония с цефуроксим аксетилом;
- получение пластифицированных мембран и углеродсодержащих чернил;
- освоение технологии получения твердоконтактного и планарного сенсоров, чувствительных к одному из представителей цефалоспориновых антибиотиков – цефуроксим аксетилу;
- определение электроаналитических и операционных характеристик твердоконтактного и планарного сенсоров на основе Cefur-ТДА;
- оценка возможности ионометрического определения цефуроксим аксетила в водных и биологических средах.

Объекты и методы исследования. В работе были исследованы твердоконтактные и планарные сенсоры на основе Cefur-ТДА.

ЭДС цепи измеряли на иономере И-160 М при температуре $20 \pm 3^\circ\text{C}$ (погрешность измерения ЭДС $\pm 1\text{ мВ}$). В качестве электрода сравнения использовали стандартный хлоридсеребряный электрод ЭВЛ-1МЗ.

Для отделения белковых компонентов из смешанной слюны использовали центрифугу ТУ 5.375-4262-76, ОПн-8УХЛ4.2, №4835, 1983г.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении рассмотрена актуальность ионометрического определения цефалоспориновых антибиотиков в водных и биологических средах.

Первая глава представляет собой обзор литературы, в котором рассмотрены общие вопросы, касающиеся химического анализа в медицин-

ской диагностике, рассмотрены биологические жидкости как объекты анализа, представлены электрохимические методы определения β -лактамных антибиотиков в лекарственных и биологических средах.

Во второй главе приведены сведения об используемом оборудовании и материалах, описаны методики проведения эксперимента и конструкции твердоконтактного и планарного сенсоров.

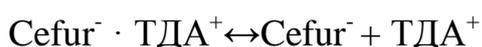
В третьей главе приведены электроаналитические и операционные характеристики сенсоров, чувствительных к цефуроксим аксетилу. Показана возможность применения сенсоров при определении антибиотика в водных и биологических средах.

Синтез электродноактивного соединения, изготовление пластифицированных мембран и углеродсодержащих чернил

В качестве электродноактивного соединения для мембран в работе использовали соединение с цефуроксим аксетилом и катионом тетрадециламмония.

При изготовлении исследуемой мембраны в качестве инертной матрицы использовали поливинилхлорид (ПВХ) марки С-70, «ч.д.а», растворитель-пластификатор-дибутилфталат (ДБФ) и электродноактивное соединение.

Синтез ЭАС осуществляется по реакции обмена, представленной на схеме:



В делительную воронку помещали раствор ТДА в хлороформе ($C=10^{-2}$ М) и водный раствор соответствующего антибиотика ($C=1,5 \cdot 10^{-2}$ М). Соотношение растворов по объему «антибиотик-соль тетраалкиламмония» = 1:2. Смесь встряхивали в течение двух часов, образовавшийся хлоро-

формный слой отделяли от водной фазы в предварительно взвешенный бюкс и испаряли хлороформ на водяной бане при температуре 50-60°C с целью избежания разложения электродноактивного вещества.

Приготовление пластифицированных мембран осуществляли по следующей методике: навески электродноактивного соединения (ЭАС) и растворителя-пластификатора дибутилфталата (ДБФ) помещали в бюкс, в который при непрерывном перемешивании на магнитной мешалке добавляли 2 мл циклогексанона (ЦГ) и небольшими порциями навеску поливинилхлорида (ПВХ) (соотношение ПВХ:ДБФ по массе равно 1:3). Полученную смесь тщательно перемешивали до полной гомогенизации. После чего выливали в чашку Петри и оставляли на воздухе до полного удаления циклогексанона на ровной горизонтальной поверхности для получения готовой мембраны одинаковой толщины. В результате получали эластичные и прозрачные мембраны толщиной порядка 0,5 мм.

Для приготовления углеродсодержащих чернил помещали в бюкс 0,0200 г электродноактивного соединения (ЭАС), 0,1818 г пластификатора дибутилфталата (ДБФ) и 0,3091 г порошка углерода. 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 0,5091 г. Полученную смесь тщательно перемешивали до полной гомогенизации.

Конструкция твердоконтактного и планарного сенсоров

В работе использовались твердоконтактные электроды с пластифицированными мембранами. 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:ДФБ по массе равно 1:3). На рис. 1 изображена конструкция твердоконтактного потенциометрического сенсора.

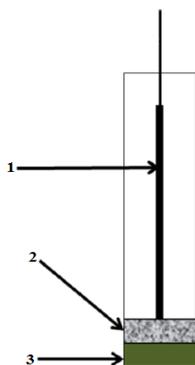


Рис. 1. Конструкция твердоконтактного электрода: 1-электронный проводник (Cu), 2-графит, 3-чувствительная мембрана

Были разработаны планарные сенсоры, изготовленные по методу трафаретной печати. Для изготовления рабочего электрода использовали подложку с графитовыми чернилами, содержащими электродноактивное вещество, и токоотвод. На рис. 2 представлена конструкция планарного сенсора, изготовленного по методу трафаретной печати.

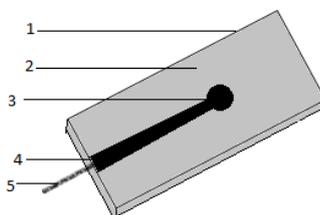


Рис. 2. Конструкция сенсора, изготовленного по методу трафаретной печати: 1-полимерная подложка, 2-изоляционный слой, 3-рабочая область, 4-графитовые чернила, 5-токоотвод

Ионоселективные электроды требуют предварительного кондиционирования, т.к. отклик некондиционированных электродов замедлен и плохо воспроизводим. Для этого перед работой электроды кондиционировали в 10^{-3} М растворе антибиотика в течение суток.

Электроаналитические свойства потенциметрических сенсоров на основе соединения Cefur-ТДА.

На рис. 3 изображены электродные функции твердоконтактного и планарного сенсоров на основе Cefur-ТДА в растворах цефуроксим аксетила.

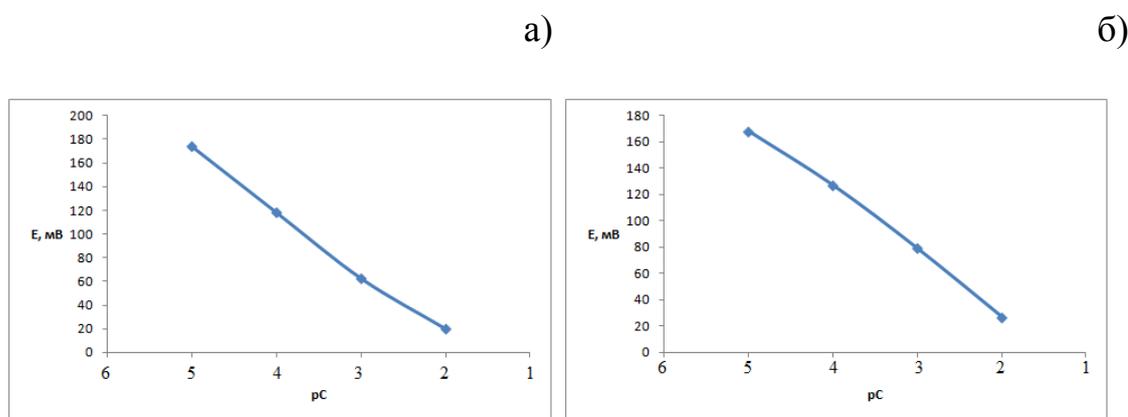


Рис. 3. Электродные функции твердоконтактного (а) и планарного (б) сенсоров на основе Cefur-ТДА в растворах цефуроксим аксетила.

Из рисунка 1 видно, что исследуемые сенсоры на основе Cefur-ТДА обладают чувствительностью к цефуроксим аксетила в широком концентрационном интервале. Электроаналитические характеристики твердоконтактного и планарного сенсоров, чувствительных к цефуроксим аксетила представлены в табл. 1,2.

Таблица 1

Электрохимические характеристики твердоконтактного сенсора в растворах
цефуроксим аксетила

ЭАС	$E=f(C),$ М	S, мВ/рС	$\tau,$ мин	ПрО, М	$\Delta E,$ мВ/сут	Срок службы, мес
Cefur- ТДА	$1 \cdot 10^{-5} -$ $1 \cdot 10^{-2}$	52 ± 4	1-2	$1 \cdot 10^{-5}$	2-4	2

Таблица 2

Электрохимические характеристики планарного сенсора в растворах цефу-
роксим аксетила

ЭАС	$E=f(C),$ М	S, мВ/рС	$\tau,$ мин	ПрО, М	$\Delta E,$ мВ/сут	Срок службы, мес
Cefur- ТДА	$1 \cdot 10^{-5} -$ $1 \cdot 10^{-2}$	48 ± 2	1-2	$1 \cdot 10^{-5}$	2-4	1

Дрейф потенциала составил 2-4 мВ/сутки. 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.

Интервал линейности электродной функции составил $1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-5}$ М, предел обнаружения цефуроксим аксетила $1 \cdot 10^{-5}$ М. Таким образом, твердоконтактный и планарный сенсоры на основе Cefur-ТДА проявляют чувствительность к цефуроксим аксетила, что свидетельствует о возможности

применения данных сенсоров для определения антибиотика в водных и биологических средах.

Определение цефуроксим аксетила в водных и биологических жидкостях ионометрическим методом

В качестве объекта исследования нами была выбрана жидкость ротовой полости. Анализ смешанной слюны представляет собой одну из наиболее значительных альтернатив анализу крови. Преимущества ротовой жидкости (смешанной слюны) как объекта анализа состоят в доступности, простоте и дешевизне взятия проб, возможности получения больших объемов.

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. Отбирали аликвоты ЖРП и вносили добавки стандартного раствора антибиотика. При использовании электродов для определения цефуроксим аксетила в ЖРП индикаторный электрод предварительно кондиционировали в ЖРП здорового человека без антибиотика в течение 20-30 мин. По полученным результатам были построены зависимости E , мВ – pC (рис. 4-5).

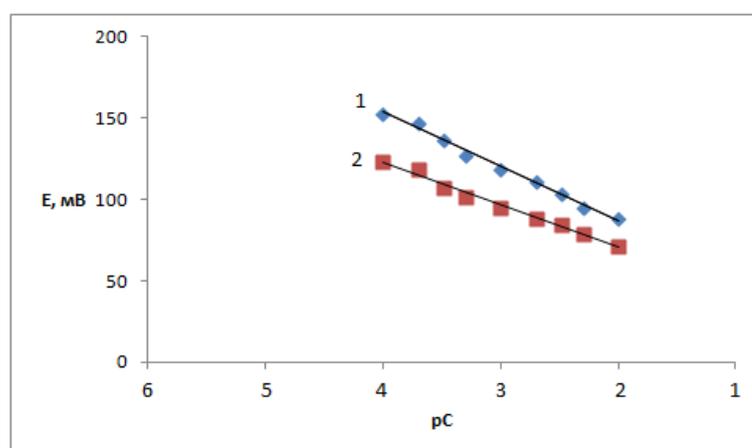


Рис. 4. Электродные функции на цефуроксим аксетил в водных растворах: твердотельный (1), планарный (2) сенсоры

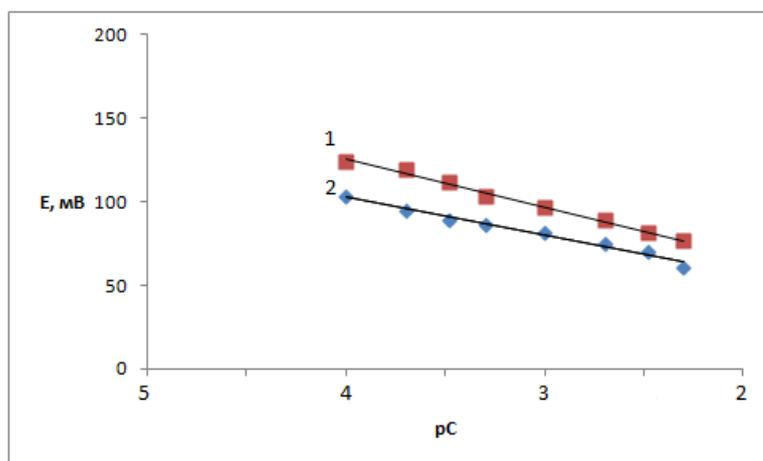


Рис. 5. Электродные функции на цефуроксим аксетил в смешанной слюне, полученные при использовании: 1-твердоконтактного сенсора, 2-планарного сенсора

По градуировочным графикам были найдены неизвестные концентрации цефуроксим аксетил в водных растворах и в смешанной слюне.

Результаты определения цефуроксим аксетил в модельных растворах с использованием твердоконтактного и планарного сенсоров на основе Cefur-ГДА представлены в табл. 3-4.

Таблица 3

Оценка правильности ионометрического определения цефуроксим аксетила методом «введено-найдено» в водных растворах ($V=10$ мл)

Введено				Найдено			
C_x	V , мл	C , моль /л	m , мг	pC	C , моль/ л	m , мг	D ,%
Твердоконтактный сенсор							
10^{-2}	3	$3 \cdot 10^{-3}$	15,3	2,5	$3,2 \cdot 10^{-3}$	$16,3 \pm 0,4$	6,7
10^{-2}	2	$2 \cdot 10^{-3}$	10,2	2,72	$1,91 \cdot 10^{-3}$	$9,7 \pm 0,3$	4,5
10^{-3}	3	$3 \cdot 10^{-4}$	1,5	3,5	$3,16 \cdot 10^{-4}$	$1,6 \pm 0,1$	5,2
Планарный сенсор							
10^{-2}	3	$3 \cdot 10^{-3}$	15,3	2,55	$2,8 \cdot 10^{-3}$	$14,3 \pm 0,4$	6,1
10^{-2}	2	$2 \cdot 10^{-3}$	10,2	2,65	$2,2 \cdot 10^{-3}$	$11,4 \pm 0,6$	12
10^{-3}	3	$3 \cdot 10^{-4}$	1,5	3,48	$3,3 \cdot 10^{-4}$	$1,7 \pm 0,2$	10,5

Таблица 4

Оценка правильности ионометрического определения цефуроксим аксетила методом «введено-найдено» на фоне ЖРП ($V=3$ мл)

Введено				Найдено			
C_x	V , мл	C , моль /л	m , мг	pC	C , моль/ л	m , мг	D ,%
Твердоконтактный сенсор							
10^{-2}	3	$3 \cdot 10^{-3}$	4,6	2,48	$3,3 \cdot 10^{-3}$	$5,1 \pm 0,4$	10
10^{-2}	2	$2 \cdot 10^{-3}$	3,1	2,75	$1,8 \cdot 10^{-3}$	$2,8 \pm 0,2$	11,1
10^{-3}	3	$3 \cdot 10^{-4}$	0,5	3,5	$3,16 \cdot 10^{-4}$	$0,48 \pm 0,1$	4
Планарный сенсор							
10^{-2}	3	$3 \cdot 10^{-3}$	4,6	2,55	$2,8 \cdot 10^{-3}$	$4,3 \pm 0,2$	6,8
10^{-2}	2	$2 \cdot 10^{-3}$	3,1	2,75	$1,8 \cdot 10^{-3}$	$2,8 \pm 0,2$	11,1
10^{-3}	3	$3 \cdot 10^{-4}$	0,5	3,5	$3,2 \cdot 10^{-4}$	$0,46 \pm 0,1$	8

Относительные погрешности определения не превышают 12%. Полученные градуировочные графики являются воспроизводимыми, и увеличение времени кондиционирования не влияет на них. Линейные зависимости сенсоров на основе Cefur-ТДА на фоне ЖРП проявляются в той же области, что и в водных растворах цефуроксим аксетила. Таким образом, изготовленные твердоконтактный и планарный сенсоры на основе Cefur-ТДА могут быть применены в анализе антибиотика в водных и биологических средах, а также в лекарственных препаратах.

ВЫВОДЫ

- Обобщены литературные данные по применению химического анализа в медицинской диагностике. Рассмотрены электрохимические методы определения β -лактамных антибиотиков в лекарственных и биологических средах.
- Разработаны твердоконтактный и планарный потенциометрические сенсоры на основе органических ионообменников, чувствительных к цефуроксим аксетилу. Определены их основные электроаналитические и операционные характеристики.
- Показано применение сенсоров для определения цефуроксим аксетила в водных и биологических средах. Определены диапазоны линейности определяемых содержаний, пределы обнаружения антибиотика.