

УДК543.577.352.523:577.164.111

РАЗРАБОТКА И ИССЛЕДОВАНИЕ КАНАМИЦИН-СЕЛЕКТИВНОГО ЭЛЕКТРОДА

О.А. ЕВТИФЕЕВА
Е.Г. КИЗИМ
И.Ю. ПЕТУХОВА

*Национальный
фармацевтический
университет,
г. Харьков, Украина*

*e-mail:
anchem@ukrfa.kharkov.ua*

Разработан ионселективный электрод (ИСЭ) на канамицина сульфат с пластифицированной мембраной и жидкостным внутренним контактом, содержащей в качестве электродоактивного вещества ионный ассоциат канамицина сульфата с фосфорномолибденовой кислотой. Интервал линейности электродной функции составляет 10^{-2} – 10^{-4} М с крутизной $26,4 \pm 0,5$ мВ, а рабочий ресурс 4-5 месяцев.

Ключевые слова: ионометрия; ион-селективный электрод (ИСЭ), канамицина сульфат, гетерополиокислоты структуры Кеггина.

Введение. Канамицина сульфат относится к антибиотикам аминогликозидного ряда и обладает широким спектром антибактериального действия. Однако его длительное употребление может вызвать поражение слухового нерва (неврит) и нарушение функции почек. Также канамицина сульфат обладает способностью угнетать дыхание до развития мышечной блокады [7,13].

В связи с этим возникает необходимость разработки экспрессных методик анализа канамицина сульфата как в лекарственных формах так и в биологических жидкостях, таких как кровь, моча, слюна.

Обзор литературных данных показал, что для идентификации канамицина сульфата применяют реакцию с пикриновой кислотой и нингидрином, метод ТСХ, УФ – и ИК-спектрофотометрию, поляриметрию [6]. Для количественного определения канамицина сульфата применяют спектроскопические методы анализа: УФ – спектрофотометрию и спектрофлюориметрию [11]. Эти методы используют для определения канамицина в лекарственных формах и биологических жидкостях (кровь и моча). Однако в фармацевтическом и медицинском анализе чаще всего применяют микробиологический метод [10]. Но он не является специфическим, характеризуется низкой чувствительностью и длительной продолжительностью анализа. Следовательно, описанные в литературе методы анализа канамицина сульфата мало чувствительны, трудоемки и длительны, в некоторых из них аналитический контроль канамицина проводят не по биологически активной части молекулы. Такой подход в настоящее время мало приемлем. В свете изложенного наиболее перспективным является потенциометрический метод с использованием ионселективных электродов (ионометрия), позволяющий проводить анализ по биологической активной части молекулы [2-5]. Также этот метод не требует применения дорогостоящего оборудования, дополнительных реактивов и реагентов, характеризуется достаточной чувствительностью и экспрессностью.

В литературе описаны ионселективные электроды (ИСЭ) на канамицин с пластифицированными мембранами на основе ионных ассоциатов канамицина с тетрафенилборатом и кислотным хром черным [8,9]. Однако предложенные электроды характеризуются узким диапазоном определяемых концентраций ($1 \cdot 10^{-3}$ – $4 \cdot 10^{-5}$), низкой специфичностью мембраны

$K_{A/B}^{pot} \approx 1$ в присутствии органических веществ, что затрудняет анализ канамицина в сложных лекарственных формах. Вероятно это обусловлено свойствами электродоселективного вещества мембраны вышеуказанных электродов. Однако в литературе имеются данные об использовании в качестве электродоактивных веществ ассоциатов органических катионов с гетерополианионами структуры Кеггина ($XMe_{12}O_{10}$; где X(P, Si); Me(Mo(V); W(VI); V(V)) [1]. Эти соединения являются труднорастворимыми в воде, но легко растворимыми в органических растворителях, что позволяет использовать их в пластифицированных мембранах ИСЭ. В связи с этим представляет интерес использовать в качестве электродоактивных веществ ассоциаты гетерополианионов структуры Кеггина с канамицином для получения ИСЭ на канамицин сульфат.

Целью исследования является изучение реакций канамицина сульфата с различными гетерополиокислотами, выбор электродоактивного вещества для получения ИСЭ на канамицин, а также изучение электроаналитических характеристик изготовленных электродов.



Материалы и методы. Для исследований использовали канамицина сульфат фармакопейной чистоты, гетерополикислоты: фосфорномолибденовая, фосфорновольфрамовая, кремниймолибденовая и кремнийвольфрамовая квалификации ч.д.а. Для выполнения реакций канамицина сульфата с гетерополикислотами готовили 0,1 М водные растворы канамицина сульфата и вышеуказанных гетерополикислот. Растворы канамицина готовили последовательным разведением его 0,1 М раствором до величины, при которой не наблюдался аналитический эффект реакции.

Синтез электродоактивного вещества для ИСЭ на канамицин. В качестве исходного компонента для получения электродоактивного вещества использовали 0,1 М водный раствор фосфорномолибденовой кислоты той же концентрации. Затем осадок центрифугировали, промывали дистиллированной водой. После этого осадок высушивали до постоянной массы при температуре 27°C-30°C.

Приготовление мембранной композиции.

Состав мембранной композиции:

	(весовые %)
Поливинилхлорид мари ПЖ-70	26±3
Дибутилфталат	54±3
Электродоактивное вещество	16±2
Малодисперсный активированный уголь	4±3

Для приготовления одновременно 5 мембран 0,33 г поливинилхлорида растворяли в 10 мл циклогексанона при 40-50°C при непрерывном перемешивании электромагнитной мешалкой. Затем в раствор вводят 13 капель (0,67 г) дибутилфталата, смесь перемешивают в течение 5 минут и вводят 0,22 г электродоактивного вещества; смесь перемешивают до тех пор, пока электродоактивное вещество не растворится полностью, затем добавляют 0,05 г высокодисперсного активированного угля. Смесь гомогенизируют в течение 30 минут. Полученную мембрану выливают в чашку Петри диаметром 50 мм и помещают в сушильный шкаф при температуре 27°C до полного ее высыхания. Затем вырезают мембрану диаметром 10 мм и наклеивают ее на корпус электрода с помощью поливинилхлоридного клея (раствор 0,1 г поливинилхлорида в 5 мл циклогексанола).

В качестве внутреннего электрода использовали серебряную проволоку с нанесением на нее слоем хлорида серебра, а в качестве внутреннего раствора – $1 \cdot 10^{-3}$ М раствор канамицина и $1 \cdot 10^{-1}$ М калия хлорида. Затем ИСЭ выдержали в 0,1 М растворе канамицина в течение 1 суток, а затем приступали к изучению их электроаналитических характеристик. Между измерениями ИСЭ хранили в 0,1 М растворе канамицина сульфата, из каждой серии измерений изучали по 5 электродов. Для исследования электродных свойств изготовленных ИСЭ использовали электрохимическую цепь с переносом (схема 1.)



Схема 1. Электрохимическая цепь с переносом.

В качестве электрода сравнения использовали хлорсеребряный электрод типа ЭВЛ-1М3. Измерения ЭДС выполнялись на иономере И-130.

Электродные функции ИСЭ исследовали в интервале концентраций канамицина сульфата от 0,1 М с последовательным разбавлением до величины, при которой электродная функция становилась нелинейной. Время отклика электродов изучали измеряя ЭДС гальванической цепи (схема 1) в растворах канамицина сульфата в течение 10 мин. С интервалом 10 с. Дрейф потенциала разработанных ИСЭ изучали измеряя ЭДС гальванической цепи (схема 1) в растворах канамицина сульфата в течение 7 суток.

Результаты и их обсуждение. С целью выбора электродоактивного вещества для ИСЭ были изучены реакции канамицина сульфата с разными гетерополикислотами: фосфорномолибденовой, фосфорновольфрамовой, кремниймолибденовой и кремнийвольфрамовой. В результате проведения реакции были получены соответствующие ионные ассоциаты канамицина сульфата с вышеуказанными гетерополикислотами, которые представляют малорастворимые в воде соединения желтого или белого цвета. Также были рассчитаны параметры чув-



ствительности реакций: предельная концентрация (C_{lim}) и предельное разбавление (V_{lim}). Результаты исследований кривизны в таблице 1.

Таблица 1

Характеристики чувствительности реакций канамицина сульфата с гетерополикислотами

Гетерополикислоты	$H_3[PMo_{12}O_{40}]$	$H_3[PW_{12}O_{40}]$	$H_4[SiMo_{12}O_{40}]$	$H_4[SiW_{12}O_{40}]$
цвет осадка, параметры чувствительности реакций	желтый	белый	желтый	белый
C_{lim} (г/см ³)	$(3,6 \pm 0,1) \cdot 10^{-5}$	$(1,2 \pm 0,2) \cdot 10^{-4}$	$(1,0 \pm 0,1) \cdot 10^{-4}$	$(2,4 \pm 0,1) \cdot 10^{-4}$
V_{lim} (см ³ /г)	$(1,7 \pm 0,1) \cdot 10^4$	$(5,3 \pm 0,1) \cdot 10^3$	$(6,7 \pm 0,1) \cdot 10^3$	$(2,7 \pm 0,2) \cdot 10^3$

Как видно из приведенных данных, все реакции характеризуются достаточной чувствительностью, однако наиболее чувствительной является реакция канамицина сульфата с фосфорномолибденовой кислотой. Следовательно, в качестве электрооактивного вещества для ИСЭ на канамицин использовали ассоциат канамицина сульфата с фосфорномолибденовой кислотой. Исследования показали, что электродная функция ИСЭ, обратимого к канамицину, является линейной в интервале $(1,0 \pm 0,2) \cdot 10^{-2} - (3,0 \pm 0,2) \cdot 10^{-4}$ М с крутизной $26,4 \pm 0,5$ мВ, что соответствует характеристикам ИСЭ для двухзарядного иона. Линейный участок электродной функции исследованных ИСЭ описывали линейным уравнением:

$$E = a + b \cdot \lg c,$$

где E – ЭДС цепи (схема 1); c – концентрация канамицина сульфата, моль/л; a и b – параметры уравнения.

Параметры уравнения, их доверительные интервалы, а также общую дисперсию S_0^2 рассчитывали по МНК [12]. Рассчитанные значения приведены в таблице 2.

Таблица 2

Параметры линейного уравнения для канамицин селективных электродов

№ электрода	a	b	$S_0^2, мВ$
1	$130,2 \pm 0,2$	$26,4 \pm 0,1$	0,14
2	$133,4 \pm 0,1$	$26,9 \pm 0,2$	0,29
3	$131,3 \pm 0,3$	$25,8 \pm 0,3$	0,28
4	$132,4 \pm 0,2$	$26,7 \pm 0,1$	0,10
5	$130,9 \pm 0,2$	$26,3 \pm 0,2$	0,31
среднее	–	$26,4 \pm 0,5$	0,22

Из таблицы 2 видно, что параметры a и b-линейного уравнения характеризуются воспроизводимостью, а величина S_0^2 не превышает 0,5 мВ, что позволяет проводить определение канамицина сульфата с достаточной точностью.

В результате исследований было установлено, что время отклика электродов при минимальной концентрации канамицина сульфата составляет 20-30с. Дрейф потенциала разработанных электродов за неделю не превышает 3-4 мВ, а их рабочий ресурс составляет 4-5 мес.

Следовательно, предложенный ИСЭ на канамицина сульфат можно использовать для ионометрического анализа канамицина сульфата.

Выводы:

1. Изучены реакции канамицина сульфата с различными гетерополикислотами, рассчитаны характеристики их чувствительности.
2. Разработан состав мембраны и конструкция ИСЭ с жидкостным внутренним контактом на канамицина сульфат.
3. Исследованы электродные функции предложенных ИСЭ на канамицина сульфат. Установлено, что интервал линейности электродной функции ИСЭ находится в пределах $10^{-2} - 10^{-4}$ М, а крутизна $26,4 \pm 0,5$ мВ, что соответствует характеристикам ИСЭ для двухзарядного иона.



Литература

1. Ткач В.І. Гетерополіаніони як аналітичні реагенти на азотовмісні органічні речовини / В.І. Ткач.: Монографія. Дніпропетровськ: Вид-во ДДУ, 1995. 196 с.
2. Морф В. Принципы работы ионселективных электродов и мембранный транспорт / В. Морф Пер. с англ. М.: Мир, 1985. 280 с.
3. Никольский Б.П. Ионселективные электроды / Б.П. Никольский, Е.А. Матерова. Л.: «Химия», 1980. 240 с.
4. Зареченський М.А. Іономеричний аналіз піридоксину гідрохлориду з використанням твердоконтактного іонселективного електроду / М.А. Зареченський, О.Г. Кизим, В.В. Болотов // Вісник фармації. 2000. №3. С.23 – 25.
5. Корыга И. Ионселективные электроды / И. Корыга, К. Штулик. М.: «Мир». 1982. 272 с.
6. Методы анализа лекарств / Н.П. Максютин, Ф.Е. Коган, Л.А. Кириченко и др. К.: «Здоров'я». 1984. 224 с.
7. Машковский М.Л. Лекарственные средства. Часть 2. / М.Л. Машковский. М.: «Медицина». 1984. 224 с.
8. Кулагина Е.Г. Экспрессное ионометрическое определение аминогликозидных антибиотиков в лекарственных формах и биологических жидкостях / Е.Г. Кулагина, В.В. Барагузна, О.И. Кулагина // Журн. аналит. химии. 2005. Т.60. №6. С.592 – 597.
9. Кулагина Е.Г. Ионселективные электроды для определения антибиотиков пенициллинового ряда в биологических жидкостях и лекарственных формах / Е.Г. Кулагина, В.В. Барагузна, О.И. Кулагина // Журн. аналит. химии. 2004. Т.38. №9. С.48 – 51.
10. Изменение электрофизических свойств клеток *Escherichia coli* K-12 при действии канамицина и тетрациклина / О.И. Гумей, О.В. Игнатов, Л.Н. Маркина и др. // Журн. микробиол. 2005. №1. С.3 – 7.
11. Abdullah Almad Simple and selective kinetic spectrophotometric method for the determination of kanamycin using acetylacetone-formaldehyde reagent in N,N'-dimethylformamide medium / Abdullah Almad, MD Nasrul Hoda, Muzamil Ahmad // Журн. аналит. химии. 2006. Т.61. №9. С.943 – 947.
12. Дворкин В.И. Метрология и обеспечение качества количественного химического анализа / В.И. Дворкин. М.: «Химия». 2001. 263 с.
13. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Харків: РІРЕГ. 2001. 556 с.

KANAMYCIN-SELEKTIVE ELECTRODE DEVELOPMENT AND EXAMINATION

O.A. YEVTFIIEVA
E.G. KISIM
I.YU. PETUKHOVA

*National Pharmaceutical
 University, Kharkov, Ukraine*

e-mail: anchem@ukrfa.kharkov.ua

The new ion-selective electrode (ISE) for kanamycin sulfate with polyvinylchloride membranes and liquid the internal contacts have been elaborated. Internal contacts contain ionic associate of kanamycin with phosphoric molybdenum acid as electrode-active substance. Linear electrode function of the ISEs elaborated appears in concentrations interval 10^{-2} – 10^{-4} M with a slope of $26,4 \pm 0,5$ mV/decade. The ISEs can be successfully applied not less than during 4-5 months.

Key words: ionometry; ion-selective electrode (ISE), kanamycin sulfate, heteropolyanions Keggin structure.