



## ХИМИЯ

УДК 543.554.61

### СЕНСОРЫ ДЛЯ КОНТРОЛЯ СОДЕРЖАНИЯ ЦЕФИКСИМА В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ И СУСПЕНЗИИ «СУПРАКС»

О. И. Кулапина<sup>1</sup>, Н. М. Макарова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Саратовский государственный медицинский университет

<sup>2</sup>Саратовский государственный университет

E-mail: melag@rambler.ru

Разработаны новые потенциометрические сенсоры на основе органических ионообменников цефиксим – диметилдистеариламмоний, чувствительные к цефиксиму. Определены их основные электроаналитические характеристики: интервал линейности электродных функций составляет  $1 \cdot 10^{-5}$  –  $1 \cdot 10^{-2}$  М, угловой коэффициент  $28 \pm 2$ ,  $C_{ЭАК} = (3,11; 3,87\%)$ , время отклика 60–90 с; дрейф потенциала 2–4 мВ/сут; срок службы 3 мес. Показана возможность применения сенсоров для ионометрического определения цефиксима в лекарственном препарате «Супракс» и жидкости ротовой полости.

**Ключевые слова:** цефиксим, ротовая жидкость, суспензия «Супракс», сенсоры.

#### Potentiometric Sensors to Control the Content Cefixime in Oral Fluid and Suspension «Supraks»

O. I. Kulapina, N. M. Makarova

New potentiometric sensors based on organic ion exchangers cefixime – dimethylstearylammonium sensitive to cefixime were elaborated. Their main electroanalytical characteristics (range of linearity of electrode functions is  $1 \cdot 10^{-5}$  –  $1 \cdot 10^{-2}$  M, the slope of electrode functions is  $28 \pm 2$ , the concentrations of electrode active compound are 3.11, 3.87%, response time is 60–90 s.; drift of potential is 4.2 mV/day, sensor's life is 3 months) were determined. The possibility of the sensors application for the cefixime ionometric determination in the pharmaceutical «Supraks» and oral fluid was shown.

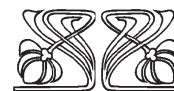
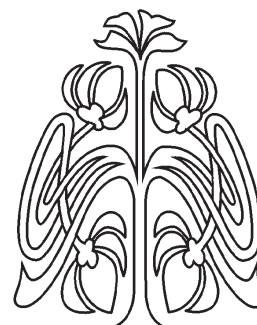
**Key words:** cefixime, oral fluid, suspension «Supraks», potentiometric sensors.

#### Введение

В настоящее время актуальной проблемой является осуществление лекарственного мониторинга, который обеспечивает выбор адекватной индивидуальной дозы и схемы применения антибиотиков для повышения эффективности и безопасности лечения.

Одним из наиболее эффективных химиотерапевтических средств современной медицины является цефиксим, цефалоспориновый антибиотик III поколения, обладающий широким спектром активности в отношении грамотрицательных бактерий. Применяется при лечении инфекций мочевыводящих путей, пиелонефрита легкой и средней тяжести, острого отита у детей и др. [1, 2].

Основными методами определения цефиксима в лекарственных и биологических средах являются спектроскопические [3–5] и вольтамперометрические методы анализа [6, 7]. Потенциометри-



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ





ческие сенсоры позволяют проводить экспрессное определение различных веществ, в том числе и в микрообъемах проб. В литературе описаны потенциометрические сенсоры, чувствительные к некоторым  $\beta$ -лактамам антибиотикам [8].

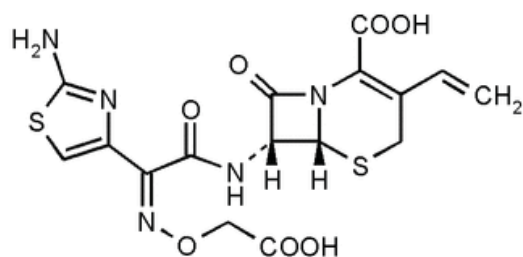
Эффективность лечения в значительной степени зависит от индивидуального восприятия препарата организмом, степени накопления вещества органами и тканями, а также времени распада антибиотика в организме. Экспрессное и точное количественное определение цефиксима в биологических жидкостях организма необходимо для оценки физиологических и биохимических процессов, протекающих в результате его метаболизма в организме, для корректировки и оптимизации курса лечения.

В последнее время все большее внимание привлекают простые, безболезненные, неинвазивные методы исследования, такие как саливадиагностика. Смешанная слюна (ротовая жидкость – ЖРП) обладает огромным спектром свойств, что позволяет применить данную биологическую жидкость для исследования различных патологических состояний. Существует выраженная связь между характеристиками слюны и параметрами крови [9,10].

В настоящей работе для экспрессного определения цефиксима в ротовой жидкости и суспензии «Супракс» предложены потенциометрические сенсоры на основе ионных ассоциатов цефиксима с катионами диметилдистеариламмония (ДМДСА).

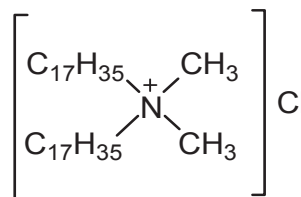
### Экспериментальная часть

В работе использовался цефиксим (*Cefix*) фармакопейной чистоты (гранулы). Цефиксим: коммерческое название препарата: «Супракс», фирма-производитель: Гедеон Рихтер, Москва.

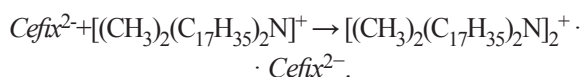


$1 \cdot 10^{-2}$  М раствор цефиксима готовят путём растворения навески препарата в небольшом количестве дистиллированной воды, фильтруют, полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят до метки дистиллированной водой. Рабочие растворы концентрацией  $1 \cdot 10^{-2}$ – $1 \cdot 10^{-5}$  М готовят последовательным разбавлением исходного.

В качестве электродноактивных веществ (ЭАВ) сенсоров применяют ионные ассоциаты цефиксима с катионами диметилдистеариламмония (ДМДСА).



Синтез ЭАВ осуществляется по реакции обмена, представленной на схеме



В делительную воронку помещают  $1 \cdot 10^{-2}$  М раствор ДМДСА в хлороформе и водный  $1 \cdot 10^{-2}$  М раствор цефиксима. Соотношение компонентов 1:2. Смесь встряхивают в течение двух часов, хлороформный слой отделяют от водной фазы в предварительно взвешенный бюкс и испаряют хлороформ на водяной бане при температуре 50–60 °С.

В качестве инертной матрицы для изготовления мембран используют поливинилхлорид (ПВХ) марки С-70, растворитель-пластификатор – дибутилфталат (ДФБ).

Приготовление пластифицированных мембран осуществляют по следующей методике: навески электродноактивного вещества растворяют в дибутилфталате при непрерывном перемешивании, затем добавляют циклогексанон и поливинилхлорид, смесь тщательно перемешивают до полной гомогенизации. После чего смесь выливают в чашку Петри и оставляют на воздухе до полного удаления циклогексанона. Получают эластичные и прозрачные мембраны толщиной порядка 0,5 мм. Соотношение поливинилхлорид: дибутилфталат = 1:3,  $C_{ЭАВ} = 3,11 - 3,87\%$ .

В работе использовались сенсоры с пластифицированными мембранами с жидкостным заполнением; внутренний раствор:  $1 \cdot 10^{-2}$  М цефиксим и  $1 \cdot 10^{-1}$  М хлорид натрия (1:1). Перед работой электроды кондиционируют в  $10^{-3}$  М растворе цефиксима в течение суток.

Электрохимические характеристики изучают методом ЭДС с использованием элемента с переносом:

$Ag, AgCl, KCl_{нас} // \text{исслед. раствор} / \text{мембрана} / \text{внутр. раствор} / AgCl, Ag$

ЭДС цепи измеряют с использованием иономера И-130 М; погрешность измерения ЭДС  $\pm 1$  мВ; электрод сравнения – хлоридсеребряный ЭВЛ-1МЗ.



Спектрофотометрические исследования проводят на спектрофотометре ShimadzuUV-1800 в кварцевых кюветках  $l = 1\text{ см}$ ; белковые компоненты из смешанной слюны отделяют с помощью центрифуги ЦЛК-1.

Для исследования транспортных свойств мембран при постоянном токе использована четырехэлектродная схема, состоящая из пары платиновых (токопроводящих) и пары хлорид-серебряных (регистрирующих) электродов.

Удельную электропроводность ( $\chi$ , См/см) рассчитывают по формуле

$$\chi = d/\pi \cdot r^2/R_M,$$

где  $d$  – толщина мембраны, см;  $r$  – радиус мембраны, см.

Исследования ротовой жидкости проводились для групп здоровых добровольцев ( $n = 8$ , средний возраст  $21 \pm 2$  года).

### Результаты и их обсуждение

Спектрофотометрически были исследованы водные растворы цефиксима; установлено, что  $\lambda_{\text{max}} = 289\text{ нм}$  (рис. 1). Кислотность свежеприготовленных водных растворов изменяется с разбавлением (от 2,19 до 5,04), что проявляется на спектрах поглощения.

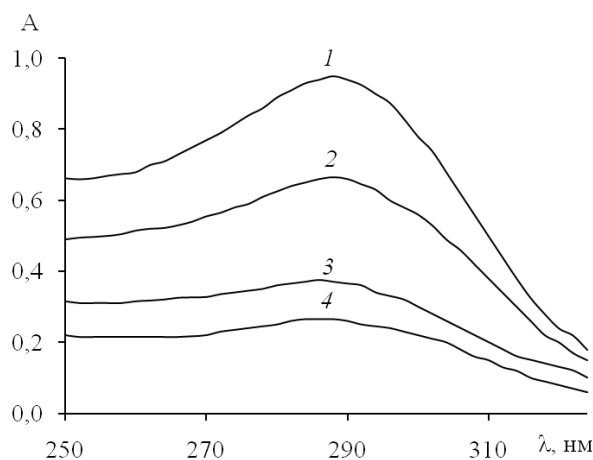


Рис. 1. Спектры поглощения водных растворов цефиксима при различных концентрациях, мкг/мл: 1 – 40,00; 2 – 26,67; 3 – 10,00; 4 – 3,33

Цефиксим – амфотерный антибиотик с карбоксильной и аминокислотной группами. Слабосильный атом азота тиазольного цикла способен присоединять протон. Антибиотик существует в виде катиона (в сильнокислой среде), цвиттер-иона (в слабокислой) или аниона (в нейтральной и щелочной средах) [11].

На фоне жидкости ротовой полости происходит сдвиг  $\lambda_{\text{max}}$  до 292 нм и уменьшение

оптической плотности, что, вероятно, связано с изменениями состояния цефиксима в исследуемых средах (рис. 2).

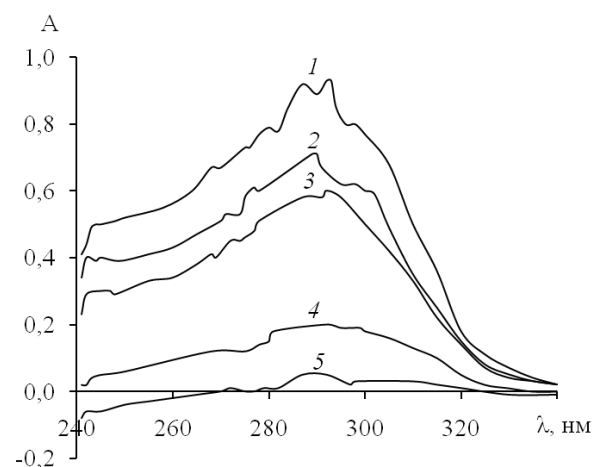
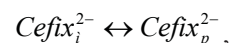
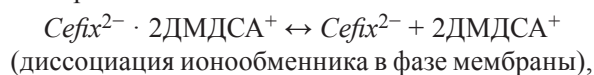


Рис. 2. Спектры поглощения цефиксима на фоне смешанной слюны практически здорового человека, мкг/мл: 1 – 50; 2 – 40; 3 – 33,33; 4 – 16,67; 5 – 6,66

Зависимость ЭДС от концентрации цефиксима выполняется в интервале  $1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-2}\text{ М}$ , угловой коэффициент  $28 \pm 2\text{ мВ/рс}$ , что соответствует переносу на границе раздела мембрана-раствор двухзарядных анионов.

Потенциалоопределяющей является реакция ионного обмена на границе мембрана/раствор. Диссоциация ионообменника происходит в фазе мембраны:



$$E = E_0 - 0.059/n \cdot \lg C_{\text{Cefix}}.$$

Поскольку кислотность водных растворов цефиксима изменилась с разбавлением от 2,19 ( $10^{-3}\text{ М}$ ) до 5,04 ( $10^{-6}\text{ М}$ ), электродные функции снимают при фиксированном значении  $\text{pH} = 6,00$ , при этом увеличивается интервал линейности электродных функций  $1 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-2}\text{ М}$  и снижается предел обнаружения цефиксима до  $5 \cdot 10^{-7}\text{ М}$ . Дрейф потенциала сенсоров составил 2–4 мВ/сут; срок службы 3 мес.

С целью получения некоторых данных о транспорте ионов в мембранах на основе *Cefix*-ДМДСА определены зависимости сопротивления мембран – время при различных концентрациях внешних растворов цефиксима, контактирующих с мембраной.

Для исследуемых мембран наблюдается уменьшение стационарного сопротивления с



увеличением концентрации антибиотиков во внешнем растворе (рис. 3), что может быть связано также с увеличением количества поглощаемых ионов из раствора и, следовательно,

возрастанием концентрации подвижных носителей зарядов в мембранной фазе. Стационарное сопротивление мембран составляет 1,6 МОм.

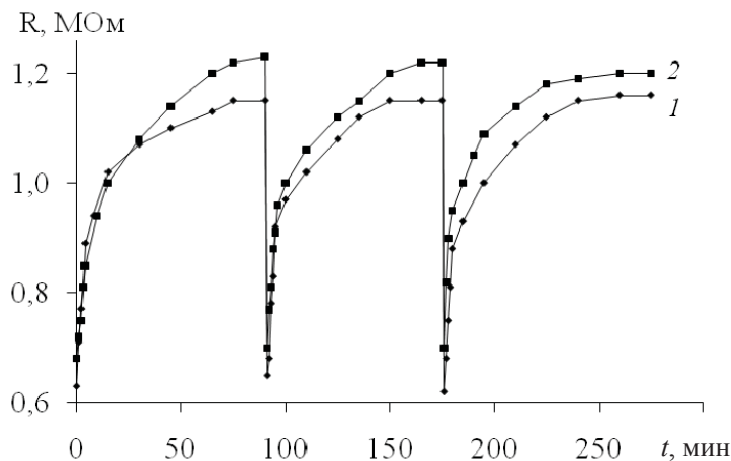


Рис. 3. Зависимость сопротивления мембран от времени при смене полярности при различной концентрации растворов цефиксима, М: 1 –  $1 \cdot 10^{-3}$ ; 2 –  $1 \cdot 10^{-4}$ ;  $C_{\text{зак}} = 2,0\%$

Для потенциометрических сенсоров на основе ионного ассоциата цефиксим–диметилдистеариламмоний коэффициенты потенциометрической селективности ( $K_{\text{сел}}$ ) определяют по отношению к антибиотикам своей группы и к анионам, входящим в состав жидкости ротовой полости, методами смешанных растворов и бионных потенциалов.

Коэффициенты потенциометрической селективности к цефуроксиму, цефалексину при совместном присутствии с цефиксимом близки к 1, что свидетельствует о возможности использования сенсоров для определения индивидуальных антибиотиков или их суммарного содержания. Значения  $K_{ij}^{\text{nom}}$  к ряду неорганических ионов  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  позволяет использовать данные сенсоры для определения цефиксима в биологических жидкостях ( $K_{ij}^{\text{nom}} = n \cdot 10^{-2} - n \cdot 10^{-1}$  М).

#### Оценка возможности применения сенсоров в анализе биосред

Исследовано поведение сенсоров в пробах ЖРП с внесёнными добавками цефиксима.

Пробу ЖРП практически здоровых лиц отбирают спустя 1–2 ч после приема пищи, перед сбором ротовую полость ополаскивали водой. Смешанную слюну центрифугируют в течение 15 мин при 3500 об/мин; Сенсор предварительно кондиционируют в ЖРП практически здорового человека в течение 20–30 мин.

Отбирают 0,3 мл водных  $1 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-2}$  М растворов цефиксима, до 3 мл разбавляют ЖРП, помещают в электрохимическую ячейку, измеряют ЭДС с индикаторным и хлоридсеребряным электродами.

Показано, что сенсоры проявляют линейную зависимость  $E$ , мВ/рС в растворах цефиксима на фоне ЖРП в интервале  $1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-4}$  М, угловой коэффициент электродных функций составляет  $28 \pm 3$  мВ/рС (рис. 4).

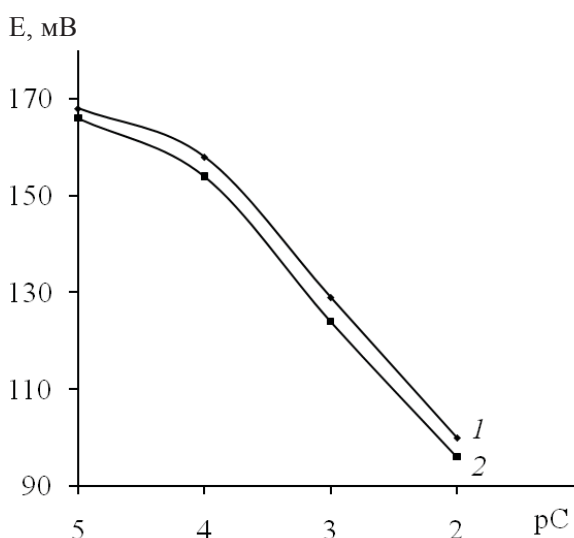


Рис. 4. Электродные функции сенсора на основе Cefix – ДМДСА на фоне смешанной слюны: 1-й день (1); 2-й день (2);  $C_{\text{зак}} = 3,11\%$



### Определение основного вещества в суспензии «Супракс»

Навеску сухого цефиксима растворяют в мерной колбе объемом 25 мл (концентрация антибиотика  $1 \cdot 10^{-2}$  М). Растворы  $1 \cdot 10^{-2}$  –  $1 \cdot 10^{-5}$  М готовят из  $1 \cdot 10^{-2}$  М раствора последовательным разбавлением в мерных колбах вместимостью 25 мл. Проводят измерение ЭДС с индикаторным и хлоридсеребряным электродами.

Для приготовления трех проб суспензии, разведенной в январе 2013 г., различных концентраций отбирают 1; 1,5 и 2 мл суспензии, помещают в мерные колбы вместимостью 25 мл, до метки доводят дистиллированной водой. Проводят измерение ЭДС с индикаторным и хлоридсеребряным электродами.

По зависимости ЭДС от отрицательного логарифма концентрации стандартного свежеприготовленного раствора цефиксима определяют концентрацию цефиксима в суспензии. Расчет содержания цефиксима в суспензии проводят по формуле

$$m = \frac{C_x \cdot M \cdot 25}{V_{\text{ал}} \cdot 1000};$$

где  $m$  – масса цефиксима в суспензии, г;  $C_x$  – концентрация цефиксима, найденная по градуировочному графику;  $M$  – молярная масса цефиксима;  $V_{\text{ал}}$  – объем аликвоты, мл.

Таким образом, предложенные сенсоры позволяют определять цефиксим в жидкости ротовой полости и основное вещество в суспензии «Супракс», что особенно важно из-за ограниченного срока ее хранения. Сенсоры можно использовать для определения антибиотиков в мутных растворах.

### Список литературы

1. *Машковский М. Д.* Лекарственные средства. М.: Новая Волна, 2006. 1216 с.
2. *Савельев В. С., Гельфанд Б. П.* Антибактериальная терапия абдоминальной хирургической инфекции. М.: Т-Визит, 2003. 185 с.
3. *Ahmed A. S. M., Elbashir A. A., Aboul-Enein H. Y.* New spectrophotometric method for determination of cephalosporins in pharmaceutical formulations // Arab. J. of Chem. 2011. Vol. 76. P. 332–346.
4. *El-Shaboury S. R., Mohamed F. A., Saleh G. A.* Analysis of cephalosporin antibiotics // Natural Science. 2007. Vol. 45, № 1. P. 1–8.
5. *Shah J., Rasul M. J., Shah S.* Investigation of new indirect spectrophotometric method for the determination of carbofuran in carbamate pesticides // Chemosphere. 2011. Vol. 21, № 2. P. 579–583.
6. *Jain R., Gupta V. K., Jadon N., Radhapyari K.* Voltammetric determination of cefixime in pharmaceuticals and biological fluids // Anal. Biochem. 2010. Vol. 407, № 1. P. 79–88.
7. *Ojani R., Raoof J.-B., Zamani S.* A novel sensor for cephalosporins based on electrocatalytic oxidation by poly(o-anisidine)/SDS/Ni modified carbon paste electrode // Bioelectrochemistry. 2010. Vol. 81, № 4–5. P. 1522–1528.
8. *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. 243–254.
9. *Коротько Г. Ф.* Секрция слюнных желез и элементов слювадиагностики. М.: Изд-во РАЕН, 2006. 195 с.
10. *Стародубцев А. К., Золкина И. В., Кондратенко С. Н., Белякова Г. А.* Изучение фармакокинетики пентоксифиллина по динамике его распределения в крови и слюне здоровых добровольцев // Хим. фарм. журн. 2008. Т. 42, № 1. С. 3–5.
11. *Алексеев В. Г.* Бионеорганическая химия пенициллинов и цефалоспоринов. Тверь: Твер. гос. ун-т, 2009. 104 с.