

ELEKTROCHEMICKÉ STANOVENIE AMLODIPÍNU VO FARMACEUTICKÝCH PRÍPRAVKOCH A V MOČI VYUŽITÍM BÓROM DOPOVANEJ DIAMANTOVEJ ELEKTRÓDY

KRISTÍNA CINKOVÁ a ĽUBOMÍR ŠVORC

Ústav analytickej chémie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava
lubomir.svorc@stuba.sk

Došlo 5.5.14, prijaté 9.10.14.

Kľúčové slová: amlodipín, bórom dopovaná diamantová elektróda, diferenčná pulzová voltampérometria, detekčný limit

Úvod

Amlodipín (AML) je liek patriaci medzi 1,4-dihydropyridínové vápnikové blokátory, ktoré slúžia ako účinný prostriedok pri liečbe srdcových arytmií. Má významný a trvalý vazorelaxačný účinok a používa sa pri miernej a stredne ťažkej hypertenzii. Je vhodnou voľbou pri prevencii preťaženia a bolesti pri ochorení angina pectoris, zabráňuje taktiež zväčšovaniu ľudského epidermálneho karcinómu buniek¹. Užívanie farmaceutických prípravkov obsahujúcich AML súvisí s prítomnosťou jeho stopových koncentrácií v biologických vzorkách (moč, krv, sérum). V tejto súvislosti je cieľom vyvíjať nové analytické techniky a postupy na stanovenie AML v rôznych matriciach, či už vo farmaceutických prípravkoch alebo biologických vzorkách.

Na základe poznatkov z literárnej rešerše možno konštatovať, že pre účely analytického stanovenia AML boli vyvinuté rozličné inštrumentálne metódy ako napr. HPLC², GC³, vysokoúčinná tenkovrstvová chromatografia (HPTLC)⁴ a v neposlednom rade spektrofotometrické⁵ a spektrofluorimetrické⁶ techniky. Vyššie uvedené metódy (prípadne ich spojenie) sa vyznačujú vysokou selektivitou a citlivosťou, o čom svedčia aj hodnoty detekčných limitov pre AML pohybujúce sa v rozmedzí 10^{-6} – 10^{-11} mol l⁻¹. Medzi nevýhody však patrí finančná náročnosť ich prístrojového vybavenia, cena analýzy a časovo náročná úprava vzorky (nutnosť predkoncentračného kroku). Súčasný trend v modernej analytickej chémii však zvyšuje nároky na vývoj nových metód, ktoré budú poskytovať spoľahlivé výsledky a zároveň budú finančne výhodné a kompatibilné so „zelenou“ analytickou chémiou⁷.

Moderné elektrochemické metódy predstavujú v posledných rokoch jednoduchú a častokrát rovnocennú

alternatívu k separačným a spektrálnym metódam. Ich hlavnými výhodami sú ekonomický (pomerne lacná inštrumentálna technika, nízka spotreba chemikálií) a časový (rýchlejšie analýzy a eliminácia zložitej úpravy vzorky) aspekt stanovenia. Najčastejšie používaným elektródovým materiálom na elektrochemické stanovenie AML s detekčnými limitmi na úrovni 10^{-5} až 10^{-7} mol l⁻¹ je elektróda zo sklovitého uhlíka (GCE), ktorá patrí k tradičným uhlíkovým materiálom s využitím predovšetkým v anodickej oblasti potenciálov^{8–10}. V dôsledku zvyšovania citlivosti a selektivity stanovenia AML sa pozornosť elektrochemikov upriamuje na chemicky modifikované elektródy, pričom ako modifikátory dominujú predovšetkým jednodenné (SWCNT) a viacdenné (MWCNT) uhlíkové nanorúrky. Ako substráty v týchto prípadoch slúžili GCE^{11,12}, grafitové pastové elektródy (GPE)^{13,14} a zlatá elektróda (AuE)¹⁵ a detekčné limity dosahujú úroveň 10^{-6} až 10^{-9} mol l⁻¹ (tab. IV).

Bórom dopovaný diamant (BDD) predstavuje v posledných dvoch desaťročiach perspektívnu alternatívu k vyššie uvedeným elektródovým materiálom. Medzi jeho hlavné výhody patrí mechanická a chemická odolnosť, biokompatibilita, nízky šum, široký potenciálový rozsah (až do 3,5 V) a odolnosť voči pasivácii produktov elektródovej reakcie vďaka jeho parafinickému charakteru¹⁶. Tieto vlastnosti ho v súčasnosti predurčujú na rozličné elektrochemické aplikácie v oblasti analýzy liečiv¹⁷, potravín¹⁸ a environmentálnych vzoriek¹⁹.

Cieľom tejto práce bol vývoj novej elektrochemickej metódy na stanovenie AML využitím diferenčnej pulzovej voltampérometrie na BDD elektróde. Na základe dostupných informácií z vedeckej literatúry považujeme za potrebné zdôrazniť, že stanovenie AML na tomto perspektívnom elektródovom materiáli doposiaľ nebolo publikované v žiadnom referáte. Praktická aplikovateľnosť metódy bola verifikovaná analýzou reálnych vzoriek farmaceutických prípravkov obsahujúcich AML a modelových vzoriek ľudského moču.

Experimentálna časť

Chemikálie

Zásobný roztok AML (> 98%, p.a., Sigma-Aldrich, Bratislava, SR) o koncentrácii $1 \cdot 10^{-3}$ mol l⁻¹ bol pripravený rozpustením príslušného množstva jeho bezylátovej soli v 10 ml metanolu (99,5%, Centralchem, Bratislava, SR) a doplnením deionizovanou vodou (Eurowater, Bratislava, SR) do 100ml odmernej banky. Pracovné roztoky nižších koncentrácií AML boli pripravené presným riedením zásobného roztoku v príslušnom základnom elektrolyte. Britton-Robinsonov pufor (BRBS) bol použitý ako základný elektrolyt pre účely práce. Pripravený bol zmiešaním kyseliny boritej (99%, p.a., Lachema o.p., Brno), kyseliny fosforečnej (85%, p.a., Lachema o.p., Brno) a kyseliny octovej (98%, p.a., Mikrochem s.r.o., Pezinok) tak, aby koncentrácia každej zložky bola 0,04 mol l⁻¹ a následne upra-

vený pomocou 0,2 mol l⁻¹ NaOH (98%, p.a., Lachema o.p., Brno) na požadované pH. Medzi ďalšie študované elektrolyty patrili acetátový pufo, fosfátový pufo a kyselina sírová (98%, p.a., Mikrochem s.r.o., Pezinok). Zásobné roztoky potenciálnych interferujúcich látok ako kyselina močová, močovina, glukóza a dopamín (u všetkých čistota väčšia ako 95%, p.a., Sigma-Aldrich, Bratislava) boli pripravené rozpustením v deionizovanej vode. Všetky zásobné roztoky boli skladované v chladničke pri teplote +4 °C.

Aparatúra

Voltampérometrické merania boli uskutočnené na elektrochemickom analyzátore AUTOLAB PGSTAT 302N (Metrohm Autolab B.V., Holandsko), pričom obsluha, priebeh merania a zber dát boli zabezpečené programom NOVA 1.9. V trojelektrodovom zapojení bola ako pracovná elektróda použitá BDD elektróda (s kruhovým filmom s aktívnym povrchom 0,43 mm², B/C = 10 000 ppm, vyrobená metódou chemickej depozície pár na Ústave elektroniky a fotoniky na Fakulte elektrotechniky a informatiky STU v Bratislave), platínový drôtik ako pomocná elektróda a argentochloridová (Ag/AgCl/3 mol l⁻¹ KCl) referenčná elektróda. Hodnoty pH boli merané na pH metri Model 215 s kombinovanou sklenenou elektródou (Denver Instrument, USA).

Voltampérometrické merania

Príslušný objem zásobného roztoku AML bol v odmernej banke doplnený na 25 ml základným elektrolytom a následne bol zaznamenaný príslušný voltampérogram. Ako voltampérometrické techniky pre účely práce boli použité cyklická voltampérometria (CV) a diferenciálna pulzová voltampérometria (DPV). Optimalizované hodnoty DPV parametrov (modulačná amplitúda 50 mV a modulačný čas 100 ms) boli použité na zostrojenie kalibračnej krivky. BDD elektróda bola vždy pred prvým meraním na začiatku pracovného dňa opláchnutá deionizovanou vodou a následne elektrochemicky čistená pomocou CV (10 cyklov) v potenciálovom rozsahu od -2 až +2 V v prostredí 0,5 mol l⁻¹ H₂SO₄.

Všetky voltampérogramy s výnimkou merania opakovanosti stanovenia (záznamy merané 20×) boli zaznamenané celkovo šesťkrát ($n = 6$) a následne štatisticky vyhodnotené. Pre potreby zostrojenia kalibračnej priamky s príslušnými regresnými parametrami bol použitý program OriginPro 8.0 (OriginLab Corporation, Northampton, USA) s pravdepodobnosťou $P = 95\%$. Detekčný limit (LOD) bol vypočítaný ako trojnásobok smerodajnej odchýlky úseku podelený smernicou kalibračnej priamky ($n = 6$).

Reálna vzorka farmaceutického prípravku

Zásobný roztok vzorky bol pripravený rozdrvením 5 tabliet Cardilopin[®] s obsahom účinnej zložky 5 mg od firmy Egis Pharmaceuticals (priemerná hmotnosť tablety bola 0,1411 g) v achátovej miske, zhomogenizovaním a rozpustením 0,3186 g prášku v malom množstve zmesného roztoku metanol:voda v objemovom pomere 1:10. Nerozpustné prímеси boli oddelené filtráciou a filtrát bol doplnený základným elektrolytom v 50 ml v odmernej banke po rysku. Alikvótna časť zásobného roztoku vzorky (0,1 ml) bola pridaná do elektrochemickej cely a doplnená na 25 ml základným elektrolytom. Na analýzu bola použitá metóda prídavku štandardu.

Modelové vzorky moču

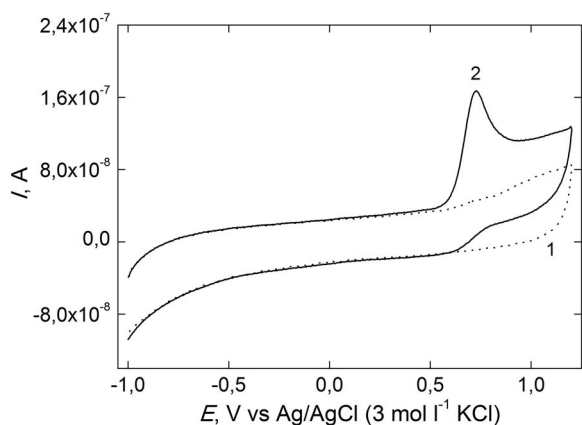
Príslušný objem moču bol odobraný od dvoch zdravých osôb (D1: žena, 22 rokov a D2: muž, 30 rokov). Dobrovoľníci v danom období neužívali farmaceutické prípravky s obsahom AML a ani iných biologicky a elektrochemicky aktívnych látok (vitamíny, antibiotiká a analgetiká). Modelové vzorky boli pripravené pridaním príslušného objemu štandardného roztoku AML s koncentráciou 1·10⁻³ mol l⁻¹ k 1 ml čerstvého moču a zriedené 25 ml základným elektrolytom. Každé meranie bolo vykonané celkovo šesťkrát, pričom na stanovenie bola použitá metóda prídavku štandardu.

Výsledky a diskusia

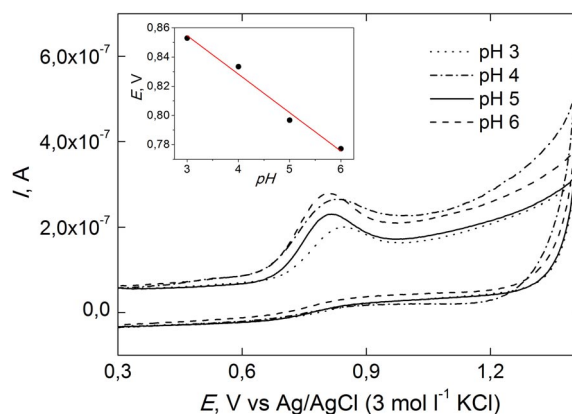
Elektrochemické správanie AML na BDD elektróde

Úvodné experimenty boli zamerané na optimalizáciu experimentálnych podmienok a posúdenie charakteru elektrochemického správania AML na povrchu BDD elektródy. Sériu pracovných roztokov bola pripravená v rôznych základných elektrolytoch (BRBS pH 5, fosfátový pufo pH 6, acetátový pufo pH 4 a 0,1 mol l⁻¹ H₂SO₄) vždy o koncentracii AML 1·10⁻⁴ mol l⁻¹ (s malým množstvom metanolu, pričom objemový pomer k základnému elektrolytu bol 1:10). Na základe prúdových maxim získaných z CV voltampérogramov nameraných v jednotlivých elektrolytoch vyplynulo, že elektrochemická oxidácia AML s najväčšou odozvou prebieha v mierne kyslom prostredí. Tvarovo najpriateľnejší anodický pik AML s najväčšou amplitúdou, ktorý prislúcha ireverzibilnej elektrochemickej oxidácii AML na BDD elektróde, bol pozorovaný v BRBS (pH 5):MeOH (10:1, v/v) pri potenciáli +0,75 V vs. Ag/AgCl/3 mol l⁻¹ KCl (obr. 1, krivka 2). Pre kvantifikačné účely bol preto vybraný tento elektrolyt.

Predmetom štúdia bol aj vplyv pH základného elektrolytu v rozsahu pH 2–12. Pri zvyšovaní pH od 7 do 11 sme pozorovali postupné rozširovanie a znižovanie oxidačného piku AML s veľkými prúdovými fluktuáciami, pričom pri pH 12 došlo k úplnému zániku signálu. V rozsahu pH 3–6 dochádzalo k lineárnemu posunu poten-



Obr. 1. CV záznamy základného elektrolytu (BR pufr s pH 5:MeOH = 10:1 v/v, krivka 1) a AML ($c_{\text{AML}} = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v BR pufrí s pH 5 (krivka 2) na BDD elektróde pri polarizačnej rýchlosti 100 mV s^{-1}



Obr. 2. CV záznamy $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ AML v BR pufrí pri rôznych pH (3 až 6) s malým množstvom metanolu (10:1, v/v) na BDD elektróde. Závislosť $E_p = f(\text{pH})$ je vložená vo vnútri grafu

ciálového maxima k negatívnejším hodnotám (obr. 2), čo naznačuje participáciu vodíkových iónov (protónov) na elektrochemickej oxidácii AML na BDD elektróde. Danú závislosť $E_{\text{max}} = f(\text{pH})$ opisuje rovnica (1):

$$E_{\text{max}} (\text{V}) = (0,934 \pm 0,021) - (0,026 \pm 0,002)\text{pH} \quad (1)$$

Hodnota (teoretickej) smernice priamky na základe Nernstovej rovnice ($0,059 \text{ V/pH}$), charakterizujúca elektródový dej, na ktorom sa spravidla zúčastňuje rovnaký počet protónov a elektrónov, sa líši od experimentálne získanej hodnoty smernice ($0,026 \text{ V}$) resp. dosahuje približne jeho dvojnásobnú hodnotu. Táto skutočnosť indikuje, že pri elektrochemickej oxidácii AML na BDD elektróde dochádza k dvojelektrónovej výmene pri súčasnom odštiepení jedného protónu za vzniku pyridínového kationu (rýchlosť určujúci krok). Následne v dôsledku odštiepenia druhého protónu môže dochádzať k vzniku pyridínu. Navrhovaný mechanizmus je uvedený na Schéme 1.

Na získanie dôležitej informácie o elektródovom deji prebiehajúcom na BDD elektróde bol sledovaný vplyv polarizačnej rýchlosti na prúdovú odozvu oxidácie AML (grafické výsledky neuvádzame). S rastúcou polarizačnou rýchlosťou v (od 10 do 200 mV s^{-1}) sa zvyšovala prúdová

odozva I_p pre AML a tento nárast možno opísať Randles-Ševčíkovou rovnicou (2):

$$I_p (\text{A}) = (-1,221 \pm 0,058) \cdot 10^{-8} + (1,870 \pm 0,006) \cdot 10^{-8} v^{1/2} (\text{mV s}^{-1}) \quad (R^2 = 0,997) \quad (2)$$

Vzhľadom na výbornú linearitu závislosti je daný elektródový proces riadený difúziou. Táto skutočnosť dokazuje výborné vlastnosti použitého elektródového materiálu, ktorý je málo náchylný na adsorpciu polárnych zlúčenín.

Voltampérometrické stanovenie AML

Pre kvantifikačné účely bola ako citlivá voltampérometrická technika použitá DPV. Na obr. 3 sú zobrazené DP voltampérogramy elektrochemickej oxidácie AML na BDD elektróde pre rôzne koncentrácie AML. Analytické parametre kalibračných závislostí dokumentuje tab. I. Dosiahnutá hodnota LOD ($7,4 \cdot 10^{-8} \text{ mol l}^{-1}$) je dôsledkom vysokého pomeru signálu a šumu (S/N). Nízka RSD hodnota ($3,6 \%$) potvrdzuje výbornú opakovateľnosť merania a nízku afinitu povrchu BDD elektródy k adsorpcii rôznych zložiek roztoku.

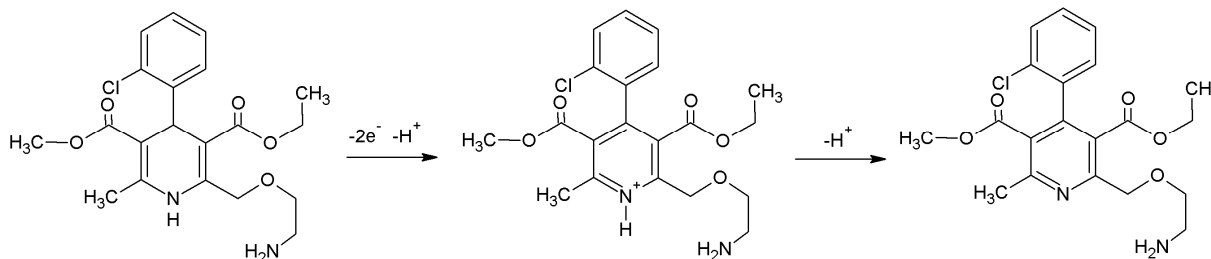
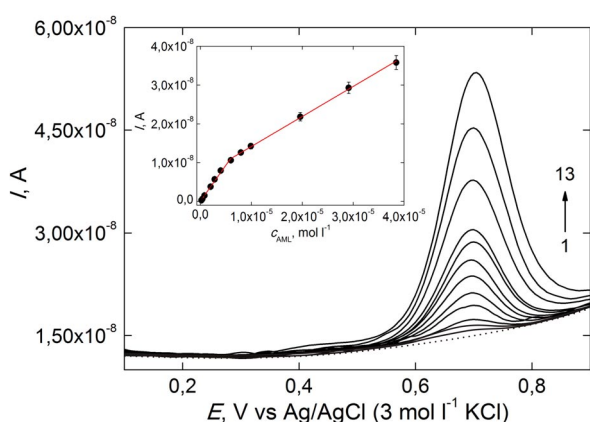


Schéma 1. Mechanizmus elektrochemickej oxidácie AML na BDD elektróde

Interferenčné štúdium bolo vykonané za účelom overenia selektivity navrhovanej metódy. Metódu sme aplikovali na analýzu vzoriek ľudského moču, preto boli v tejto súvislosti vybrané interferenty (močovina, kyselina močová, glukóza a dopamín), ktoré sa môžu nachádzať v tejto matrici. Experimenty boli uskutočnené na konštantnej koncentračnej úrovni AML $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ za rovnakých experimentálnych podmienok ako v predchádzajúcich prípadoch. Výsledky naznačujú, že prítomnosť vyššie uvedených interferentov výrazne ovplyvňuje elektrochemickú oxidáciu AML, obzvlášť v prípade glukózy a močoviny (grafické výsledky neuvádzame). Bolo zistené, že pri ich 100-násobnom nadbytku dochádza takmer k 80% zmene



Obr. 3. DP voltampéromogramy AML v prostredí BR pufru (pH 5):MeOH (10:1 v/v) na BDD elektróde pre koncentrácie c_{AML} : 0 (1), $2 \cdot 10^{-7}$ (2), $4 \cdot 10^{-7}$ (3), $8 \cdot 10^{-7}$ (4), $2 \cdot 10^{-6}$ (5), $2,8 \cdot 10^{-6}$ (6), $4 \cdot 10^{-6}$ (7), $6 \cdot 10^{-6}$ (8), $8 \cdot 10^{-6}$ (9), $9,9 \cdot 10^{-6}$ (10), $1,9 \cdot 10^{-5}$ (11), $2,9 \cdot 10^{-5}$ (12) a $3,8 \cdot 10^{-5}$ (13) mol l^{-1} . DPV parametre: modulačná amplitúda 50 mV, modulačný čas 100 ms a potenciál kroku 5 mV. Z odpovedajúca kalibračná priamka $I = f(c_{\text{AML}})$ je vložena vo vnútri grafu

signálu AML. U kyseliny močovej bol pozorovaný výrazný nárast prúdového maxima AML (21 %) až pri 50-násobnom nadbytku. Striedavý nárast a pokles prúdovej odozvy AML (40 %) bol zaznamenaný pri 20-násobnom nadbytku kyseliny askorbovej. Vplyv dopamínu sa so zvyšujúcou sa koncentráciou interferentu prejavil proporcionálnym nárastom prúdovej odozvy AML, pričom už 50-násobný nadbytok dokázal zmeniť signál AML o 30 %. Použitie danej metódy v reálnych vzorkách biologického charakteru tak môže byť limitované v prítomnosti vysokých nadbytkov študovaných interferentov.

Metóda bola následne použitá na analýzu reálnych vzoriek farmaceutických tabliet. Na obr. 4 možno vidieť DP voltampéromogramy analýzy tabliet a proporcionálny nárast oxidačného píku AML pri $+0,75 \text{ V}$ v závislosti od prídavku štandardu. Stanovené množstvá pre AML prehľadne dokumentuje tab. II. Dosiagnuté výtlačnosti sa pohybovali na úrovni 101,3 až 104,1 %, vplyv možných interferencií prítomných vo vzorkách tabliet tak možno považovať za zanedbateľný.

Modelové vzorky moču boli získané od dvoch dobrovoľníkov (D1 a D2) a výsledky analýzy s príslušnými výtlačnosťami (105,7 a 94,1 %) sú prehľadne uvedené v tab. III. Obr. 5 ilustruje DP voltampéromogramy analýzy moču jedného z dobrovoľníkov (D2). Z uvedených kriviek je zrejme, že dochádzalo k separácii potenciálových maxím AML ($+0,65 \text{ V}$) a iných zložiek prítomných v moči (píky pri $+0,30$ a $+0,45 \text{ V}$). Z analýzy modelovej vzorky moču vyplýva, že samotná matrica ovplyvňovala pikové maximum AML, ktoré bolo v porovnaní s meraním uskutočneným v čistom elektrolyte a pri analýze tabliet posunuté smerom k negatívnejším hodnotám ($+0,65 \text{ V}$). Vysoké hodnoty výtlačnosti však poukazujú na správnosť metódy a taktiež jej potenciálne využitie pri analýze biologických vzoriek.

V porovnaní s inými elektrochemickými metódami stanovenia AML uvedených v tab. IV je dosiahnutý LOD v danej práci minimálne o jeden rád nižší ako v predchádzajúcich referátoch opisujúcich stanovenie

Tabuľka I

Základné analytické parametre kalibračných závislostí pre stanovenie AML technikou DPV na BDD elektróde ($n = 6$)

Parameter	Hodnota	
	1. lineárny úsek	2. lineárny úsek
Úsek, A	$1,0 \cdot 10^{-10}$	$6,4 \cdot 10^{-9}$
Smernica, A l mol ⁻¹	$1,9 \cdot 10^{-3}$	$7,7 \cdot 10^{-4}$
Chyba úseku, A	$4,7 \cdot 10^{-11}$	$2,7 \cdot 10^{-10}$
Chyba smernice, A l mol ⁻¹	$7,5 \cdot 10^{-5}$	$1,2 \cdot 10^{-5}$
LCR, mol l ⁻¹	$2 \cdot 10^{-7} - 6 \cdot 10^{-6}$	$6 \cdot 10^{-6} - 3,8 \cdot 10^{-5}$
R ²	0,996	0,998
LOD, mol l ⁻¹	$7,4 \cdot 10^{-8}$	–
RSD ^a , %	3,6	–

^a Vypočítané pre koncentračnú hladinu AML na úrovni $9,9 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ pre $n = 20$

Tabuľka II

Analýza farmaceutických tabliet Cardilopin[®] ($n = 6$) s deklarovaným obsahom 5 mg AML metódou prídavku štandardu ($c_{\text{AML}} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$)

Pridaný objem AML [μl]	Očakávané množstvo AML [μg]	Štandardná odchýlka [μg]	Stanovené množstvo AML ^a [μg]	Výtťažnosť [%]
0	5000	26	(5202 \pm 22)	104,1
10	5056	14	(5123 \pm 12)	101,3
20	5113	17	(5256 \pm 14)	102,8
30	5170	14	(5272 \pm 11)	102,0

^a Interval spoľahlivosti vypočítaný podľa [$\bar{x} \pm t_{n-1,\alpha} SD/n^{1/2}$]; $t_{5; 0,05} = 2,0150$

Tabuľka III

Analýza modelových vzoriek moču metódou prídavku štandardu ($n = 6$)

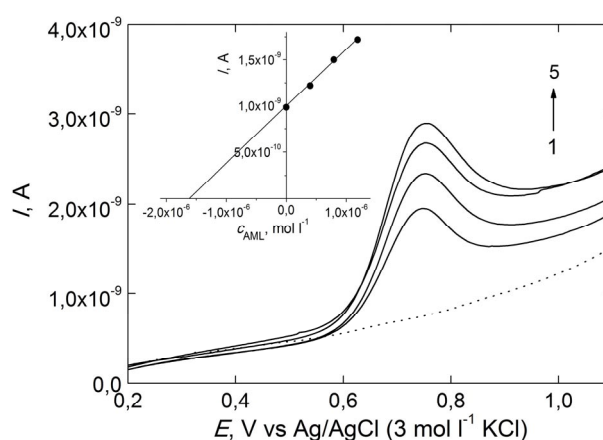
Vzorka	Pridaná koncentrácia AML [mol l^{-1}]	Stanovená koncentrácia AML [mol l^{-1}]	Výtťažnosť [%]
D1	$3,70 \cdot 10^{-6}$	$(3,91 \pm 0,04) \cdot 10^{-6}$	105,7
D2	$1,69 \cdot 10^{-6}$	$(1,59 \pm 0,03) \cdot 10^{-6}$	94,1

^a Interval spoľahlivosti vypočítaný podľa [$\bar{x} \pm t_{n-1,\alpha} SD/n^{1/2}$]; $t_{5; 0,05} = 2,0150$

AML na elektróde zo sklovitého uhlíka^{8–10} a porovnateľný resp. o jeden rád vyšší oproti elektrochemickým metódam využívajúcim chemicky modifikované elektródové povrchy^{11–15}. To dokazuje výborné vlastnosti použitého elektródového materiálu z hľadiska citlivosti a to bez nutnosti chemickej modifikácie jeho povrchu. Použitie nemoifikovaných elektród redukuje náklady spojené s prípravou a znižuje riziko chýb merania. Dosažené výsledky sú dôkazom toho, že BDD elektróda môže predstavovať efektívnu alternatívu ku GCE a modifikovaným elektródam pri elektrochemickom stanovení AML.

Záver

V tejto práci bolo úsilie zamerané na vývoj novej elektrochemickej metódy na stanovenie AML využitím BDD elektródy bez nutnosti chemickej modifikácie povrchu. AML podliehal ireverzibilnej elektrochemickej oxidácii s píkovým maximom +0,75 V v prostredí BRBS pH 5 s malým množstvom metanolu (10:1, v/v). Pomocou



Obr. 4. DP voltampérogramy analýzy farmaceutických tabliet s obsahom AML v prostredí BR pufru (pH 5): MeOH (10:1 v/v) na BDD elektróde s objemom prídavku štandardu AML ($c_{\text{AML}} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$): čistý elektrolyt (1), bez prídavku (2), 10 μl (3), 20 μl (4) a 30 μl (5) k roztoku v elektrochemickej cele o celkovom objeme 25,1 ml. DPV parametre: modulačná amplitúda 50 mV, modulačný čas 100 ms a potenciál kroku 5 mV. Vložený graf zobrazuje závislosť výšky oxidačného píku od koncentrácie prídavku štandardu AML.

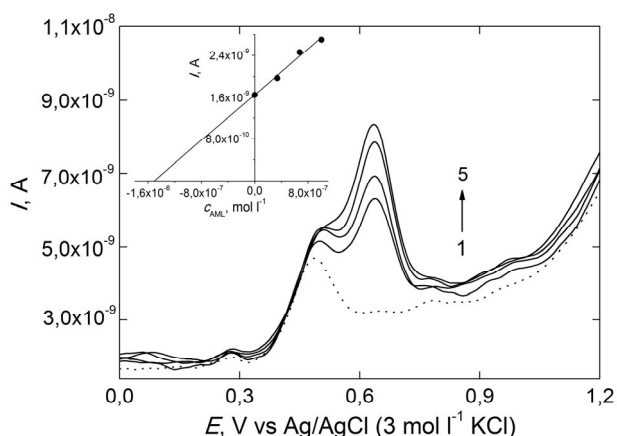
DPV techniky boli dosiahnuté nasledovné analytické parametre: LKR od $2 \cdot 10^{-7}$ do $6 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ a od $6 \cdot 10^{-6}$ do $3,8 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$, LOD = $7,4 \cdot 10^{-8} \text{ mol l}^{-1}$, LOQ = $2,5 \cdot 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$ a opakovateľnosť (RSD = 3,6 % pre $9,9 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ a $n = 20$). Praktická aplikovateľnosť metódy bola verifikovaná analýzou reálnych vzoriek farmaceutických prípravkov (výtťažnosti od 101,3 do 104,1 %) a modelových vzoriek ľudského moču (výtťažnosti 105,7 a 94,1 %). Metóda je jednoduchá, rýchla, dostatočne presná a správna. Navrhnutý analytický postup využívajúci BDD elektródu umožňuje spoľahlivú kontrolu kvality farmaceutických produktov a monitorovanie AML vo vzorkách moču.

Tabuľka IV

Prehľad voltampérometrických metód stanovenia AML na nemodifikovaných a modifikovaných elektródových povrchoch a ich porovnanie s BDD elektródou

Elektróda	Modifikátor	Technika	E_p^a [V]	LKR [mol l ⁻¹]	LOD [mol l ⁻¹]	Lit.
GCE	MWCNT	DPSV	+0,59	$1,7 \cdot 10^{-8} - 5,2 \cdot 10^{-7}$	$1,7 \cdot 10^{-9}$	11
GCE	MWCNT	DPSV	+0,50	$1,7 \cdot 10^{-8} - 5,2 \cdot 10^{-7}$	$8,6 \cdot 10^{-9}$	12
GPE	MWCNT	DPV	-0,39	$4,3 \cdot 10^{-6} - 1,7 \cdot 10^{-4}$	$1,7 \cdot 10^{-6}$	13
EPPGE	SWCNT	SWV	+0,45	$5,0 \cdot 10^{-9} - 1,0 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-9}$	14
AuE	MWCNT	AdSWASV	+0,75	$2,4 \cdot 10^{-5} - 3,4 \cdot 10^{-5}$	$4,2 \cdot 10^{-6}$	15
GCE	–	DPV	+0,87	$8,1 \cdot 10^{-6} - 4,1 \cdot 10^{-5}$	$1,2 \cdot 10^{-5}$	16
GCE	–	DPV	+0,82	$4,0 \cdot 10^{-6} - 1,0 \cdot 10^{-4}$	$8,0 \cdot 10^{-7}$	9
GCE	–	DPV	+0,95	$1,0 \cdot 10^{-6} - 3,5 \cdot 10^{-5}$	$3,1 \cdot 10^{-7}$	10
BDDE	–	DPV	+0,70	$2,0 \cdot 10^{-7} - 6,0 \cdot 10^{-6}$ $6,0 \cdot 10^{-6} - 3,8 \cdot 10^{-5}$	$7,4 \cdot 10^{-8}$	–

^a vs. Ag/AgCl/3 mol l⁻¹ KCl



Obr. 5. DP voltampérogramy analýzy modelovej vzorky moču v prostredí BR pufru (pH 5): MeOH (10:1 v/v) (krivka 1) na BDD elektróde so známym prídavkom (tzv. „spiked“ vzorky) 0,5 ml AML (2) a následným objemom štandardu AML ($C_{AML} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$): 10 μl (3), 20 μl (4) a 30 μl (5) k roztoku v elektrochemickej cele o celkovom objeme 26 ml. DPV parametre: modulačná amplitúda 50 mV, modulačný čas 100 ms a potenciál kroku 5 mV. Vložený graf zobrazuje závislosť výšky oxidačného píku od koncentrácie prídavku štandardu AML

Táto práca bola podporovaná Vedeckou grantovou agentúrou VEGA č. 1/0051/13 a Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-0797-11.

Zoznam symbolov a skratiek

AdSWASV	adsorptívna square-wave anodická rozpúšťacia voltampérometria
AML	amlodipín
AuE	zlatá elektróda
BDD	bórom dopovaný diamant
BDDE	bórom dopovaná diamantová elektróda
CPE	uhlíková pastová elektróda
CV	cyklická voltampérometria
DPSV	diferenčná pulzová rozpúšťacia voltampérometria
DPV	diferenčná pulzová voltampérometria
EPPGE	pyrolytická grafitová elektróda s rovnými hranami
GCE	elektróda zo sklovitého uhlíka
HMDE	visiaca kvapková ortuťová elektróda
HPTLC	vysokoúčinná tenkovrstvová chromatografia
LKR	lineárny koncentračný rozsah
LOD	detekčný limit
LOQ	medza stanovenia
MWCNT	viacstenná uhlíková nanorúrka
RSD	relatívna štandardná odchýlka
S/N	pomer signálu k šumu
SWCNT	jednostenná uhlíková nanorúrka
SWV	square-wave voltampérometria

LITERATÚRA

1. Strel B., Lainé C., Zimmer C., Sibenaler R., Ceccato A.: J. Biochem. Biophys. Methods. 54, 357 (2002).
2. Dongre V., Shah S., Karmuse P., Phadke M., Jadhav V.: J. Pharm. Biomed. Anal. 46, 583 (2008).

3. Monkman S., Ellis J., Cholerton S., Thomason J., Seymour R.: *J. Chromatogr. B* 678, 360 (1996).
4. Argekar A., Powar S.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 21, 1137 (2000).
5. Sayeda S., Amin A., Manrouk E., Omara H.: *Arabian J. Chem.* 2, 59 (2009).
6. Wadood A., Mohamed N., Mahmoud A.: *Spectrochim. Acta* 70, 564 (2008).
7. Libánský M., Zima J., Barek J., Dejmková H.: *Chem. Listy* 108, 243 (2014).
8. Altiokka G., Dogrukol-Ak D., Tunçel M., Aboul-Enein H. Y.: *Arch. Pharm. Med. Chem.* 2, 104 (2002).
9. Bogan Topal B., Bozal B., Demircigil B. T., Uslu B., Ozkan S. A.: *Electroanalysis* 21, 2427 (2009).
10. Erden P. E., Taşdemir I. H., Kaçar C., Kiliç E.: *Int. J. Electrochem. Sci.* 9, 2208 (2014).
11. Sikkander A. M. R., Vedhi C., Manisankar P.: *Chem. Mater. Res.* 1, 2224 (2011).
12. Sikkander A. M. R., Vedhi C., Manisankar P.: *Int. J. Ind. Chem.* 3, 29 (2012).
13. Mohammadi A., Moghaddam A. B., Eilkhazadem K., Alikhani E., Mozaffari S., Yavari T.: *Nano Lett.* 8, 413 (2013).
14. Goyal R. N., Bishnoi S.: *Bioelectrochemistry* 79, 234 (2010).
15. Stoiljković Z. Z., Avramov Ivić M. L., Petrović S. D., Mijin D. Ž., Stevanović S. I., Lačnjevac U. Č., Marinković A. D.: *Int. J. Electrochem. Sci.* 7, 2288 (2012).
16. Musilová J., Barek J., Pecková K.: *Chem. Listy* 103, 469 (2013).
17. Uslu B., Ozkan S. A.: *Anal. Lett.* 44, 2644 (2011).
18. Yardım Y., Gülcan M., Şentürk Z.: *Food Chem.* 141, 1821 (2013).
19. Závazalová J., Dejmková H., Barek J., Pecková K.: *Electroanalysis* 25, 253 (2013).

K. Cinková and E. Švorc (*Institute of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Bratislava*): **Electrochemical Determination of Amlodipine in Pharmaceutical Formulations and in Human Urine Using a Boron-Doped Diamond Electrode**

The boron-doped diamond electrode (BDDE) as a perspective electrochemical sensor in association with differential pulse voltammetry was used for a sensitive determination of Amlodipine (AML) was determined in pharmaceutical formulations and in urine using a BDDE. AML undergoes an irreversible electrochemical oxidation with a peak potential of ca. +0,75 V (vs. Ag/AgCl, 3 mol l⁻¹ KCl in a mixture of Britton-Robinson buffer of pH 5 and methanol, 10:1). The obtained parameters were as follows: the linear concentration range at 2·10⁻⁷ – 6·10⁻⁶ mol l⁻¹ and at 6·10⁻⁶ – 3,8·10⁻⁵ mol l⁻¹, detection limit 7,4·10⁻⁸ mol l⁻¹ and relative standard deviation 3,6 % at 9,9·10⁻⁶ mol l⁻¹ AML, *n* = 20). The proposed procedure was used in the analysis of commercial tablets and model urine samples with good recoveries. The method is simple, rapid, sensitive and of good repeatability.