

VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ METRONIDAZOLU POMOCÍ STŘÍBRNÉ PEVNÉ PRACOVNÍ ELEKTRODY

*Nové pohledy na analytickou chemii**

ONDŘEJ MRÁČEK a VLASTIMIL VYSKOČIL

UNESCO laboratoř elektrochemie životního prostředí,
Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Uni-
verzita Karlova, Hlavova 8, 128 43 Praha 2
vlastimil.vyskocil@natur.cuni.cz

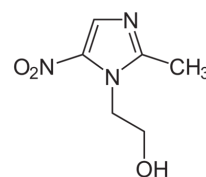
Došlo 14.5.21, přijato 30.8.21.

Klíčová slova: metronidazol, antibiotika, analýza léčiv,
elektrochemie, diferenční pulzní voltametrie, stříbrná
pevná elektroda

Úvod

Metronidazol (MND, 2-(2-methyl-5-nitroimidazol-1-yl)ethanol, viz obr. 1) je antibiotické léčivo používané k léčbě těžkých bakteriálních infekcí (např. centrálního nervového systému, plic a dýchacího ústrojí, zažívacího traktu či ženských pohlavních orgánů)¹. Klíčovým momentem při usmrcení mikroorganismů je cytotoxický účinek jeho metabolitů ve fázi redukce nitroskupiny, kdy dochází k vytvoření toxických meziproductů (mimo jiné i ke vzniku volných radikálů), které mohou reagovat s RNA, DNA nebo případně s buněčnými proteiny². Díky nízkým pořizovacím nákladům a zároveň přijatelnému profilu nežádoucích účinků z hlediska farmakokinetiky a farmakodynamiky je MND řazen mezi velice účinná léčiva².

V Českém lékopisu je pro stanovení MND v lékových formách doporučena oxidačně-redukční potenciometrická titrace³. Díky přítomnosti snadno elektrochemicky redukovatelné nitroskupiny v jeho struktuře je výhodné pro jeho alternativní stanovení použít moderní voltametrické techniky^{4–6}. Cílem této práce bylo vyvinout novou voltametrickou metodu pro stanovení MND využívající stříbrnou pevnou pracovní elektrodu, která je moderní netoxickou alternativou k tradičním pracovním elektrodám na bázi rtuti^{7,8}.



Obr. 1. Strukturální vzorec metronidazolu (MND)

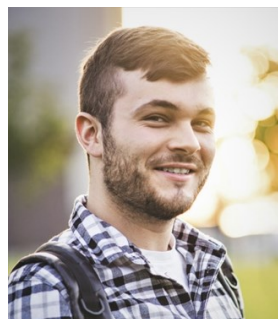
Experimentální část

Reagencie

Zásobní roztoky MND (p.a., Sigma-Aldrich, USA) o koncentracích $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$ a $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol l}^{-1}$ byly připraveny v deionizované vodě a uchovávány za nepřístupu světla. Základním elektrolytem byl Brittonův-Robinsonův (BR) pufr připravený smísením jeho kyselá (směs 0,04M H_3PO_4 , H_3BO_3 a CH_3COOH) a zásadité (0,2M NaOH) složky.

Aparatura

Měření bylo provedeno na počítačem řízeném analyzátoru Mini- and Microelectrode System UM μ E (Polaro-Sensors, Praha) v tříelektrodovém zapojení s nastavenou citlivostí I (proudový rozsah 100 μA). Byla použita pracovní stříbrná pevná elektroda (AgSE; průměr

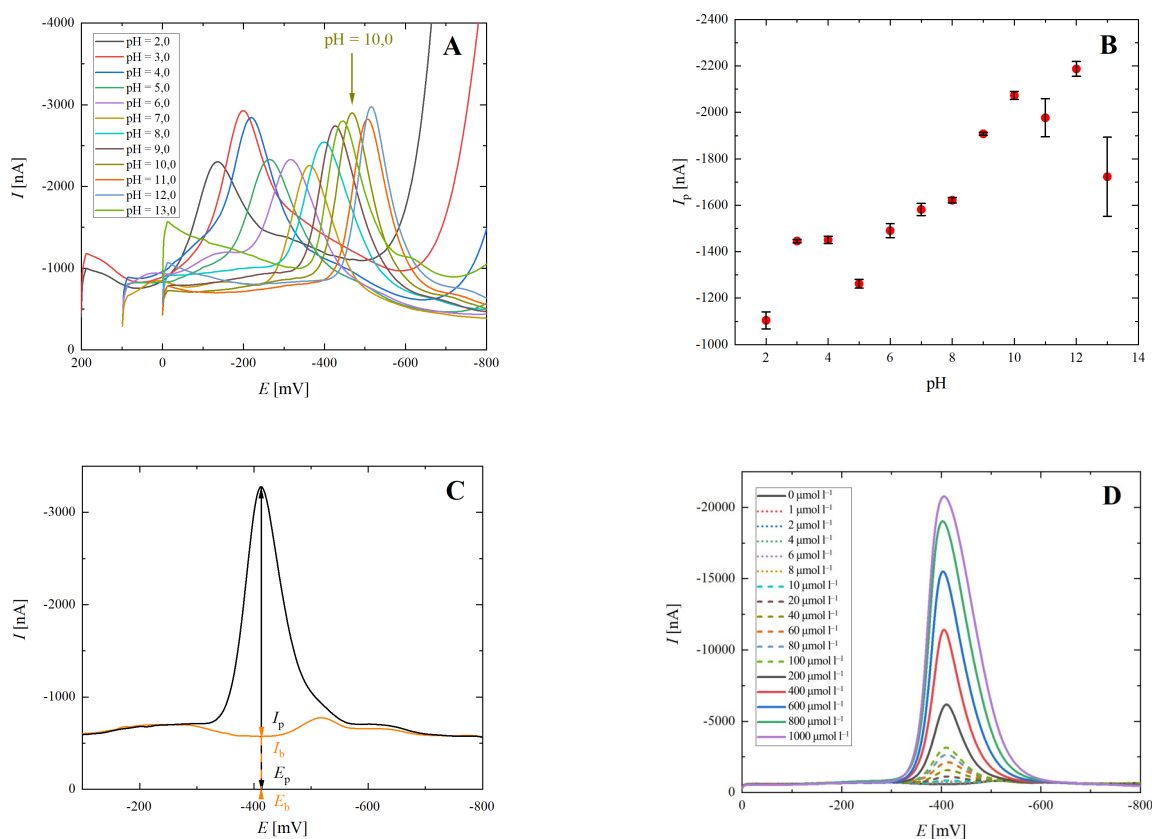


Bc. Ondřej Mráček studoval v letech 2015–2020 bakalářský obor Klinická a toxikologická analýza na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy, kde na Katedře analytické chemie vypracoval svoji bakalářskou práci, kterou obhájil v červenci 2020. V současnosti na stejné katedře vypracovává diplomovou práci v rámci navazujícího magisterského studia oboru Analytická chemie, ve které se zabývá využitím stříbrné pevné elektrody při voltametrickém stanovení léčiv. Výsledky své práce prezentoval na celostátní soutěži o nejlepší studentskou vědeckou práci v oboru analytická chemie „O cenu Karla Štulíka 2021“, ve které získal zvláštní cenu firmy Metrohm Česká republika za nejlepší práci v oblasti elektroanalytické chemie.

disku 2 mm, typ 6.1204.130, Metrohm, Švýcarsko), referentní argentchloridová elektroda (3M KCl, Monokrystaly, Turnov) a pomocná platinová drátková elektroda (Monokrystaly, Turnov). Pro záznam a zpracování voltamogramů byl použit program Polar 5.1 Pro (Polaro-Sensors, Praha), který pracoval pod operačním systémem Windows XP (Microsoft Corporation, USA). Byla použita diferenční pulzní voltmetrie (DPV) s následujícími parametry: rychlost polarizace 20 mV s^{-1} , výška pulzu -50 mV , šířka pulzu 100 ms (se vzorkováním proudu po dobu posledních 20 ms), doba trvání pulzu 150 ms . Ve voltametrické cele byly sledovány vzorky o celkovém objemu $10,0 \text{ ml}$. Při studiu voltametrického chování MND při různém pH a při optimalizaci regeneračních potenciálů byla použita koncentrace MND $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$. Kalibrační závislost byla sestavena pomocí přídávku MND o koncentraci $1 \cdot 10^{-3}$ a $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol l}^{-1}$. Kyslík byl z analyzovaných roztoků odstraněn pětiminutovým probubláváním dusíkem.

Výsledky a diskuse

Prvním krokem při vývoji DPV metody bylo nalezení vhodného základního elektrolytu. Proto byly zaznamenány DP voltamogramy MND o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ při hodnotách pH 2,0–13,0. Před tímto měřením byla nejdříve provedena elektrochemická aktivace elektrody (za stálého míchání roztoku byl na AgSE vložen potenciál -2200 mV po dobu 5 min) v kyselé složce BR pufru při pH 1,88, což mělo za následek zlepšení odezvy (snížení proudu pozadí použitého pufru). Z obr. 2A je patrné, že MND v celém studovaném rozmezí pH poskytuje jeden dobře vyvinutý voltametrický pík (odpovídající klasické čtyřelektronové redukci přítomné nitroskupiny na odpovídající hydroxylamin⁵). Vybraný DPV pík MND při pH 10,0 je dostatečně vysoký (obr. 2B), typicky Gaussovský a zároveň má význam při tomto pH relativně nízkou proudovou odezvu pozadí.



Obr. 2. DP voltamogramy MND zaznamenané na AgSE v BR pufru v rozmezí pH 2,0–13,0 bez regenerace elektrody (A), závislost proudu píku MND (I_p) na pH sestavená odečtením pozadí BR pufru od absolutní výšky píku MND ($n = 5$) (B), názorná ukázka tohoto způsobu vyhodnocení proudu píku MND (postup vyhodnocení i použité symboly jsou vysvětleny v textu) s použitou optimální elektrochemickou regenerací elektrody (postup regenerace a její parametry jsou uvedeny v textu) (C) a DP voltamogramy MND registrované na AgSE v BR pufru o pH 10,0 v rozsahu koncentrací $(1\text{--}1000) \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ s optimálními parametry měření (D). Pro (A), (B) a (C) je molární koncentrace MND $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$. (Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chemické listy)

Tabulka I
Přehled metod DPV stanovení MND na různých pracovních elektrodách

Elektroda ^a	Prostředí BR pufru o uvedeném pH	LOD [mol l ⁻¹]	LOQ [mol l ⁻¹]	Cit.
AgSE	10,0	5,5·10 ⁻⁷	1,8·10 ⁻⁶	tato práce
m-AgSAE	8,0	5,7·10 ⁻⁸	1,9·10 ⁻⁷	4
p-AgSA-CE	4,0	1,2·10 ⁻⁶	4,0·10 ⁻⁶	5
HMDE	9,0	3,6·10 ⁻⁸	1,2·10 ⁻⁷	14
GCE	4,5	3,4·10 ⁻⁶	1,1·10 ⁻⁵	15
GCE modifikovaná DNA	4,5	1,7·10 ⁻⁶	5,7·10 ⁻⁶	15

^a AgSE – stříbrná pevná elektroda, m-AgSAE – rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda, p-AgSA-CE – leštěná stříbrná pevná amalgámová kompozitní elektroda, HMDE – rtuťová visící kapková elektroda, GCE – elektroda ze skelného uhlíku

Dále byla věnována pozornost správnému odečtení výšky píku MND, a to pomocí dvou technik. První typ vyhodnocení byl proveden proložením základní linie přímo v programu Polar Pro a následným odečtením proudu píku MND od této linie při určitém potenciálu píku (E_p). Druhý typ vyhodnocení (obr. 2C), který byl v této práci zvolen jako výhodnější, byl proveden přímým odečtením proudu samotného BR pufru (I_b) od absolutní výšky píku MND (I_p) při potenciálu maxima píku (oba proudy byly tudíž odečítány při stejném potenciálu, $E_p = E_b$).

Následně byl proveden výběr vhodné elektrochemické regenerace povrchu AgSE mezi jednotlivými stanoveními MND. Tento postup je běžně používaný pro stříbrné pevné amalgámové pracovní elektrody^{5,9,10} a pro AgSE byl v této práci nově optimalizován. Po vyzkoušení několika dvojic počátečních ($E_{in,r}$) a koncových ($E_{fin,r}$) regeneračních potenciálů (potenciály byly vkládány na AgSE za stálého míchání roztoku střídavě v intervalech 0,1 s ($T_{in,r}$ a $T_{fin,r}$) celkem $150 \times (N_r)$) byly jako optimální parametry elektrochemické regenerace povrchu AgSE zvoleny: $N_r = 150$, $E_{in,r} = 0$ mV, $T_{in,r} = 0,1$ s, $E_{fin,r} = -1500$ mV, $T_{fin,r} = 0,1$ s. Použitá elektrochemická regenerace nepůsobila pouze na odezvu samotného základního elektrolytu, ale měla vliv i na výšku a šířku píku MND. Po provedené regeneraci jsou píky užší, vyšší, lépe vyvinuté a snáze vyhodnotitelné. Tento jev lze vysvětlit pasivací AgSE, kterou lze částečně eliminovat právě elektrochemickou regenerací elektrody.

Kalibrační závislost (I_p [nA] = $-27,75c$ [μmol l⁻¹] + 66, $r^2 = 0,9994$) proměřená za výše uvedených optimálních podmínek (DPV záznamy na obr. 2D) byla lineární v rozsahu koncentrací $(1-400) \cdot 10^{-6}$ mol l⁻¹, lze však využít i dílčí kalibrační přímky pro jednotlivé koncentrační řády. Dosažené meze detekce (LOD; $3\sigma/k$) a stanovitelnosti (LOQ; $10\sigma/k$) činily pro MND $5,5 \cdot 10^{-7}$ mol l⁻¹ a $1,8 \cdot 10^{-6}$ mol l⁻¹.

Závěr

V této práci byla vyvinuta nová voltametrická metoda pro stanovení léčiva metronidazolu (MND) na stříbrné tuhé elektrodě, jejíž použití reprezentuje nové přístupy při stanovení biologicky aktivních organických látek, které aktuálně zkoumáme v naší UNESCO laboratoři elektrochemie životního prostředí¹¹⁻¹³. Za optimálních podmínek bylo v prostředí BR pufru o pH 10,0 dosaženo LOD $5,5 \cdot 10^{-7}$ mol l⁻¹ a LOQ $1,8 \cdot 10^{-6}$ mol l⁻¹. Získané hodnoty jsou srovnatelné s charakteristikami dříve publikovaných DPV metod využívajících pracovní elektrody z jiných materiálů (tab. I). Dalším krokem v našem výzkumu bude ověření vyvinuté metody pro stanovení MND v lékových formách a v biologických materiálech.

Tato práce byla vypracována v rámci Specifického vysokoškolského výzkumu (projekt SVV260560) a finančně podpořena Grantovou agenturou České republiky (projekt GAČR 20-01589S). Autoři děkují za technickou, materiální a intelektuální podporu firmě Metrohm Česká republika s.r.o. (www.metrohm.cz).

LITERATURA

1. Státní ústav pro kontrolu léčiv: Metronidazol – souhrn údajů o přípravku, <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC158257.pdf&type=spc&as=entizol-spc>, staženo 9. 1. 2021.
2. Freeman C. D., Klutman N. E., Lamp K. C.: *Drugs* 54, 679 (1997).
3. Státní ústav pro kontrolu léčiv: *Český lékopis 2017*. SÚKL, Praha 2017.
4. Škvorová L.: *Voltametrické stanovení vybraných nitroimidazolových léčiv. Diplomová práce*. Univerzita Karlova v Praze, Praha 2012.

5. Vyskočil V., Navrátil T., Daňhel A., Dědík J., Krejčová Z., Škvorová L., Tvrđíková J., Berek J.: *Electroanalysis* 23, 129 (2011).
6. Vyskočil V., Daňhel A., Fischer J., Kotasová M., Málek A., Radová J., Pecková K., Berek J.: *Chem. Listy* 104, s521 (2010).
7. Berek J., Pecková K., Vyskočil V.: *Chem. Listy* 103, 889 (2009).
8. Vyskočil V., Daňhel A., Fischer J., Novotný V., Deýlová D., Musilová-Karaová J., Maixnerová L., Pecková K., Berek J.: *Chem. Listy* 104, 1181 (2010).
9. Yosypchuk O., Karásek J., Vyskočil V., Berek J., Pecková K.: *Sci. World J.* 2012, 231986 (2012).
10. Tvrđíkova J., Danhel A., Berek J., Vyskocil V.: *Electrochim. Acta* 56, 23 (2012).
11. Berek J.: *Chem. Listy* 114, 570 (2020).
12. Dvořák P., Vyskočil V.: *Chem. Listy* 113, 703 (2019).
13. Khristunova E., Berek J., Kratochvíl B., Korotkova E., Dorozhko E., Vyskočil V.: *Chem. Listy* 114, 618 (2020).
14. Gui Y., Ni Y. N., Kokot S.: *Chin. Chem. Lett.* 22, 591 (2011).
15. Brett A. M. O., Serrano S. H. P., Gutz I., La-Scalea M. A.: *Bioelectrochem. Bioenerg.* 42, 175 (1997).

O. Mráček and V. Vyskočil (*UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague*): **Voltammetric Determination of Metronidazole Using a Silver Solid Working Electrode**

Metronidazole (MND) is an antibiotic drug used to treat severe bacterial infections (e.g., of the central nervous system, lungs and respiratory tract, digestive tract, or female genital organs). In this work, a new voltammetric method for the determination of MND on a silver solid electrode was developed. Under optimum conditions (Britton-Robinson buffer of pH 10.0 used as a supporting electrolyte and electrochemical regeneration of the working electrode surface applied to eliminate its passivation), a linear calibration dependence of MND was recorded in the concentration range from 1 to 400 $\mu\text{mol L}^{-1}$, with the limits of detection (*LOD*) and quantification (*LOQ*) of 0.55 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and 1.8 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: metronidazole, antibiotics, drug analysis, electrochemistry, differential pulse voltammetry, silver solid electrode

Acknowledgements

This research was supported by the Czech Science Foundation (Project GACR 20-01589S), and it was carried out within the framework of the Specific Charles University Research (Project SVV260560). Technical, material, and intellectual support from Metrohm Czech Republic is gratefully acknowledged.

VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF METRONIDAZOLE USING A SILVER SOLID WORKING ELECTRODE

*New Perspectives on Analytical Chemistry**

ONDŘEJ MRÁČEK and VLASTIMIL VYSKOČIL

UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry,
Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science,
Charles University, Hlavova 8, 128 43 Prague 2
vlastimil.vyskocil@natur.cuni.cz

Received 14.5.21, accepted 30.8.21.

Keywords: metronidazole, antibiotics, drug analysis, electrochemistry, differential pulse voltammetry, silver solid electrode

Introduction

Metronidazole (MND, 2-(2-methyl-5-nitroimidazol-1-yl)ethanol, see Fig. 1) is an antibiotic drug used to treat severe bacterial infections (e.g., of the central nervous system, lung and respiratory tract, gastrointestinal tract, or female genital organs)¹. A key point in killing microorganisms is the cytotoxic effect of its metabolites in the nitro-reduction phase when toxic intermediates are formed (including free radicals) that can react with RNA, DNA, or eventually with cellular proteins². Due to its low acquisition cost and, at the same time, an acceptable side effect profile in terms of pharmacokinetics and pharmacodynamics, MND is considered to be a highly effective drug².

The Czech Pharmacopoeia recommends oxidation-reduction potentiometric titration for the determination of MND in dosage forms³. Due to the presence of an easily electrochemically reducible nitro group in its structure, it is advantageous to use modern voltammetric techniques for its alternative determination^{4–6}. The aim of this work was to develop a new voltammetric method for the MND determination using a silver solid working electrode which is a modern non-toxic alternative to traditional mercury-based working electrodes^{7,8}.

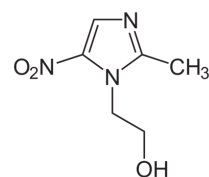


Fig. 1. Structural formula of metronidazole (MND)

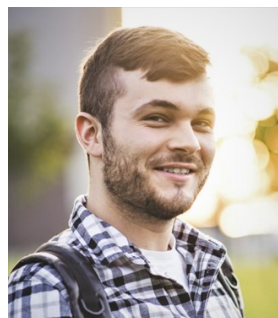
Experimental part

Reagents

Stock solutions of MND (p.a., Sigma-Aldrich, USA) at concentrations of 1×10^{-3} mol L⁻¹ and 1×10^{-2} mol L⁻¹ were prepared in deionized water and stored in the absence of light. The supporting electrolyte was a Britton-Robinson (BR) buffer prepared by mixing its acidic (mixture of 0.04M H₃PO₄, H₃BO₃, and CH₃COOH) and basic (0.2M NaOH) components.

Apparatus

Measurements were performed on a computer-controlled Mini- and Microelectrode System UM μ E analyser (Polaro-Sensors, Prague) in a three-electrode ar-



Bc. Ondřej Mráček studied in the years 2015–2020 in the Bachelor's degree in Clinical and Toxicological Analysis at the Faculty of Science of Charles University where he prepared his Bachelor's Thesis at the Department of Analytical Chemistry which he defended in July 2020. Currently, he is working on his Master's Thesis at the same department as part of the follow-up Master's degree in Analytical Chemistry in which he is dealing with the use of a silver solid electrode in the voltammetric determination of drugs. The results of his work were presented at the national competition for the best student scientific work in analytical chemistry "The Karel Štulík Prize 2021" in which he received a special prize from the company Metrohm Czech Republic for the best work in the field of electroanalytical chemistry.

rament, with sensitivity set to I (current range 100 μA). A working silver solid electrode (AgSE; disk diameter 2 mm, type 6.1204.130, Metrohm, Switzerland), a silver/silver chloride reference electrode (3M KCl, Monokrystaly, Turnov), and an auxiliary platinum wire electrode (Monokrystaly, Turnov) were used. The Polar 5.1 Pro software (Polaro-Sensors, Prague) was used to record and process the voltammograms and operated under the Windows XP operating system (Microsoft Corporation, USA). Differential pulse voltammetry (DPV) was used with the following parameters: polarization rate 20 mV s^{-1} , pulse height -50 mV, pulse width 100 ms (with current sampling for the last 20 ms), and pulse duration 150 ms. Samples with a total volume of 10.0 mL were analysed in the voltammetric cell. The MND concentration of 1×10^{-4} mol L^{-1} was used to study the voltammetric behaviour of MND at different pHs and to optimize the regeneration potentials. The calibration dependence was constructed by adding MND concentrations of 1×10^{-3} and 1×10^{-2} mol L^{-1} . Oxy-

gen was removed from the analysed solutions by bubbling with nitrogen for 5 min.

Results and discussion

The first step in developing the DPV method was to find a suitable supporting electrolyte. Therefore, DP voltammograms of MND with a concentration of 1×10^{-4} mol L^{-1} at pH values of 2.0–13.0 were recorded. Prior to this measurement, the electrode was first electrochemically activated (a potential of -2200 mV was applied to the AgSE for 5 min while stirring the solution) in the acidic component of BR buffer at pH 1.88, which resulted in an improved response (reduced background current of the buffer used). It can be seen from Fig. 2A that MND provides a single well-developed voltammetric peak (corresponding to the classical four-electron reduction of the present nitro group to the corresponding hydroxylamine⁵) over the entire pH

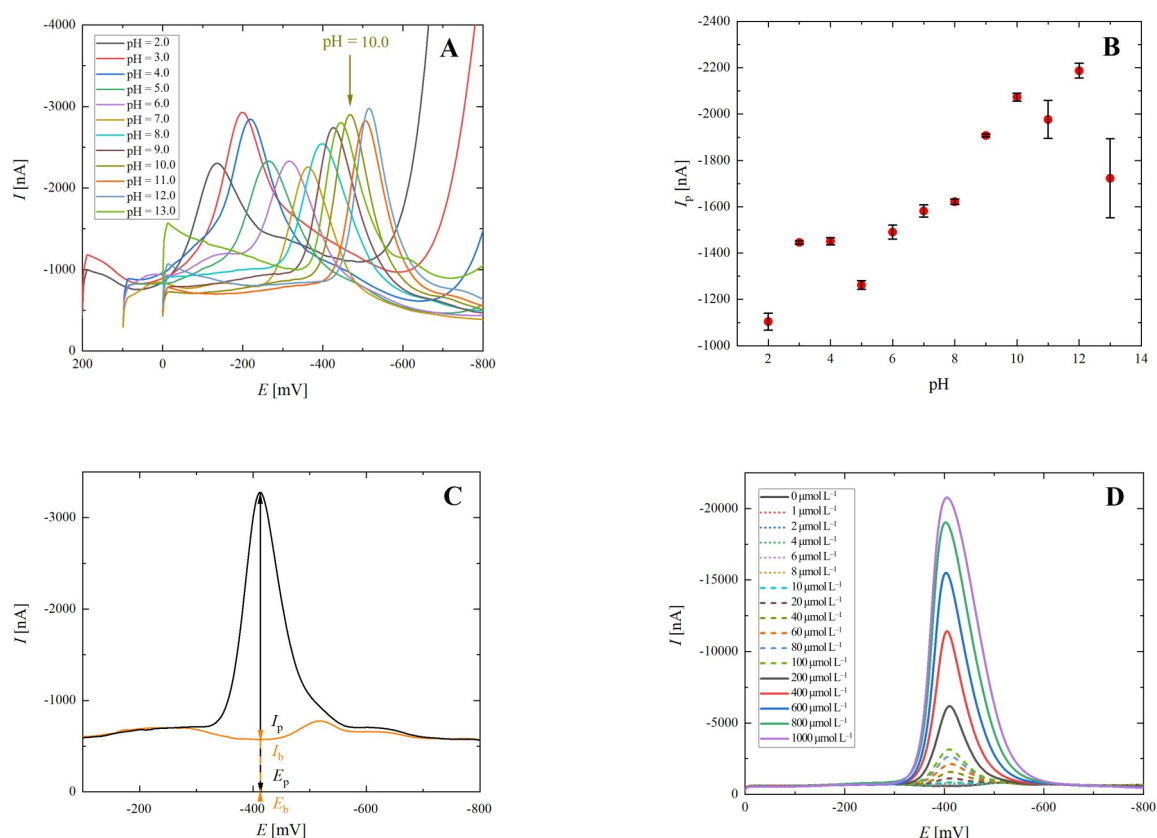


Fig. 2. DP voltammograms of MND recorded at the AgSE in the BR buffer over the pH range 2.0–13.0 without electrode regeneration (A); dependence of the peak current of MND (I_p) on the pH constructed by subtracting the BR buffer background from the absolute peak height of MND ($n = 5$) (B); an illustration of this method of evaluating the peak current of MND (the evaluation procedure and symbols used are explained in the text) using optimal electrochemical regeneration of the electrode (the regeneration procedure and its parameters are given in the text) (C); and DP voltammograms of MND recorded on the AgSE in the BR buffer at pH 10.0 in the concentration range $(1\text{--}1000) \times 10^{-6}$ mol L^{-1} with optimal measurement parameters (D). For (A), (B), and (C), the molar concentration of MND is 1×10^{-4} mol L^{-1} . (A colour version of the figure is available on the Chemické Listy journal website)

Table I
Overview of DPV methods for the determination of MND on different working electrodes

Electrode ^a	BR buffer medium at the pH indicated	LOD [mol L ⁻¹]	LOQ [mol L ⁻¹]	Ref.
AgSE	10.0	5.5×10 ⁻⁷	1.8×10 ⁻⁶	this work
m-AgSAE	8.0	5.7×10 ⁻⁸	1.9×10 ⁻⁷	4
p-AgSACE	4.0	1.2×10 ⁻⁶	4.0×10 ⁻⁶	5
HMDE	9.0	3.6×10 ⁻⁸	1.2×10 ⁻⁷	14
GCE	4.5	3.4×10 ⁻⁶	1.1×10 ⁻⁵	15
GCE modified with DNA	4.5	1.7×10 ⁻⁶	5.7×10 ⁻⁶	15

^a AgSE – silver solid electrode, m-AgSAE – mercury meniscus modified silver solid amalgam electrode, p-AgSACE – polished silver solid amalgam composite electrode, HMDE – mercury hanging drop electrode, GCE – glassy carbon electrode

range studied. The selected DPV peak of MND at pH 10.0 is sufficiently high (Fig. 2B), typically Gaussian, and, at the same time, the recorded voltammograms have a relatively low background current response at this pH.

Furthermore, attention was paid to the correct evaluation of the MND peak height using two techniques. The first type of evaluation was performed by interpolation of the baseline directly in the Polar Pro software and then reading the MND peak current from this line at a certain peak potential (E_p). The second type of evaluation (Fig. 2C), which was chosen as more convenient in this work, was performed by direct subtracting the BR buffer current itself (I_b) from the absolute MND peak height (I_p) at the given peak potential (both currents were, therefore, subtracted at the same potential, $E_p = E_b$).

Subsequently, the selection of the appropriate electrochemical regeneration of the AgSE surface between MND determinations was performed. This procedure is commonly used for silver solid amalgam working electrodes^{5,9,10} and was newly optimized for the AgSE in this work. After testing several pairs of initial ($E_{in,r}$) and final ($E_{fin,r}$) regeneration potentials (the potentials were alternately applied to the AgSE while stirring the solution at 0.1 s intervals ($T_{in,r}$ and $T_{fin,r}$) for a total of 150 times (N_r)), the following were selected as the optimal parameters for electrochemical regeneration of the AgSE surface: $N_r = 150$, $E_{in,r} = 0$ mV, $T_{in,r} = 0.1$ s, $E_{fin,r} = -1500$ mV, $T_{fin,r} = 0.1$ s. The applied electrochemical regeneration did not only affect the response of the supporting electrolyte itself, but also influenced the height and width of the MND peak. After the regeneration, the peaks are narrower, higher, better developed, and easier to evaluate. This phenomenon can be explained by the AgSE passivation which can be partially eliminated by the electrochemical regeneration of the electrode.

The calibration dependence (I_p [nA] = $-27.75c$ [μmol L⁻¹] + 66, $r^2 = 0.9994$) measured under the above optimal conditions (DPV records in Fig. 2D) was linear over the con-

centration range (1–400)×10⁻⁶ mol L⁻¹, however partial calibration lines for individual concentration orders can also be used. The limits of detection (LOD; $3\sigma/k$) and limits of quantification (LOQ; $10\sigma/k$) achieved for MND were 5.5×10⁻⁷ mol L⁻¹ and 1.8×10⁻⁶ mol L⁻¹, respectively.

Conclusion

In this work, a new voltammetric method for the determination of the drug metronidazole (MND) on a silver solid electrode was developed, the use of which represents new approaches in the determination of biologically active organic compounds that are currently being investigated in our UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry^{11–13}. Under optimal conditions, LOD of 5.5×10⁻⁷ mol L⁻¹ and LOQ of 1.8×10⁻⁶ mol L⁻¹ were achieved in the BR buffer at pH 10.0. The values obtained are comparable to the characteristics of previously published DPV methods using working electrodes from other materials (Table I). The next step in our research will be verification of the developed method for the determination of MND in pharmaceutical forms and biological materials.

REFERENCES

1. State Institute for Drug Control: Metronidazole – Summary of Product Characteristics, <http://www.sukl.cz/modules/medication/download.php?file=SPC158257.pdf&type=spc&as=entizol-spc>, accessed on 9 January 2021.
2. Freeman C. D., Klutman N. E., Lamp K. C.: *Drugs* 54, 679 (1997).
3. State Institute for Drug Control: *Czech Pharmacopoeia 2017*. SÚKL, Prague 2017.
4. Škvorová L.: *Diploma Thesis*. Charles University, Prague 2012.
5. Vyskočil V., Navrátil T., Daňhel A., Dědík J., Krejčo-

- vá Z., Škvorová L., Tvrđíková J., Berek J.: *Electroanalysis* 23, 129 (2011).
6. Vyskočil V., Daňhel A., Fischer J., Kotasová M., Málek A., Radová J., Pecková K., Berek J.: *Chem. Listy* 104, s521 (2010).
 7. Berek J., Pecková K., Vyskočil V.: *Chem. Listy* 103, 889 (2009).
 8. Vyskočil V., Daňhel A., Fischer J., Novotný V., Deýlová D., Musilová-Karaová J., Maixnerová L., Pecková K., Berek J.: *Chem. Listy* 104, 1181 (2010).
 9. Yosypchuk O., Karásek J., Vyskočil V., Berek J., Pecková K.: *Sci. World J.* 2012, 231986 (2012).
 10. Tvrđikova J., Danhel A., Berek J., Vyskocil V.: *Electrochim. Acta* 56, 23 (2012).
 11. Berek J.: *Chem. Listy* 114, 570 (2020).
 12. Dvořák P., Vyskočil V.: *Chem. Listy* 113, 703 (2019).
 13. Khristunova E., Berek J., Kratochvíl B., Korotkova E., Dorozhko E., Vyskočil V.: *Chem. Listy* 114, 618 (2020).
 14. Gui Y., Ni Y. N., Kokot S.: *Chin. Chem. Lett.* 22, 591 (2011).
 15. Brett A. M. O., Serrano S. H. P., Gutz I., La-Scalea M. A.: *Bioelectrochem. Bioenerg.* 42, 175 (1997).

Abstract

Metronidazole (MND) is an antibiotic drug used to treat severe bacterial infections (e.g., of the central nervous system, lungs and respiratory tract, digestive tract, or female genital organs). In this work, a new voltammetric method for the determination of MND on a silver solid electrode was developed. Under optimal conditions (Britton-Robinson buffer of pH 10.0 used as a supporting electrolyte and electrochemical regeneration of the working electrode surface applied to eliminate its passivation), a linear calibration dependence of MND was recorded in the concentration range from 1 to 400 $\mu\text{mol L}^{-1}$, with the limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) of 0.55 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and 1.8 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively.

Acknowledgements

This research was supported by the Czech Science Foundation (Project GACR 20-01589S), and it was carried out within the framework of the Specific Charles University Research (SVV 260560). Technical, material, and intellectual support from Metrohm Czech Republic is gratefully acknowledged.