

Eclética Química

Print version ISSN 0100-4670 *On-line version* ISSN 1678-4618

Eclet. Quím. vol.23 São Paulo 1998

<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-46701998000100011>

Estudo voltamétrico de redissolução catódica de cefaloglicina em meio aquoso sobre eletrodo de mercúrio

Letícia Norma Carpentieri RODRIGUES*

Valdir de Souza FERREIRA*

Maria Valnice Boldrin ZANONI*

RESUMO: Voltamogramas de redissolução catódica de cefaloglicina em meio ácido exibem uma única onda de redução em potenciais próximos da descarga do eletrólito (-1.0 V). Entretanto, o fármaco pode ser determinado indiretamente em meio alcalino (pH 10) através do complexo formado entre cefaloglicina e Hg(I) gerado na superfície do eletrodo sob potencial de acúmulo positivo ($E_{ac} = +0.20$ V). Uma curva de calibração linear no intervalo de 0.122 a 1.22 mg/mL foi obtida para cefaloglicina em tampão B-R pH 10 utilizando-se tempo de acúmulo de 30 seg e potencial de acúmulo de +0.20 V. O método mostra alta reprodutibilidade e sensibilidade com desvio padrão relativo de 1,4 % para 5 determinações de 5×10^{-7} mol/L de cefaclor e limite de detecção de 5,17 ng/mL.

PALAVRAS-CHAVE: Cefaloglicina; cefalosporinas; voltametria de redissolução catódica.

Introdução

Cefalosporinas são o maior grupo de antibióticos **b**-lactâmicos usados na clínica médica. São ativos contra um grande espectro de infecções bacterianas, cuja ação baseia-se na inibição da transpeptidase, enzima envolvida na síntese da parede celular bacteriana.⁶ Estes compostos são caracterizados por uma estrutura contendo um anel **b**-lactâmico condensado a um anel diitroiazínico. Alterações nas cadeias laterais, através da introdução de diferentes substituintes no C_3 e C_7 , são responsáveis por conferir ao fármaco, características distintas quanto à atividade antimicrobiana, estabilidade, tolerância orgânica, diminuição do efeito alérgico e etc.

Cefaloglicina é uma cefalosporina semi-sintética amplamente utilizada na terapêutica de processos

infecciosos graves.¹⁷ Sua estrutura química é mostrada na [Figura 1](#). A taxa de ligação protéica é baixa (10%), não sofre biotransformação, e 80 a 90 % da droga é excretada por via urinária no período de 24 horas.⁶ Os métodos analíticos disponíveis na literatura para determinação da droga e seus produtos de degradação são baseados nas técnicas cromatográficas,^{9,12} espectrofotométricas^{10,18} e titulação potenciométrica.³

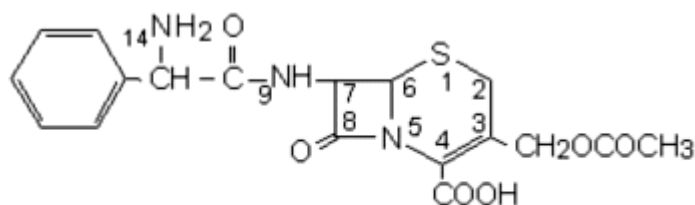


FIGURA 1 - Estrutura molecular da Cefaloglicina.

A redução polarográfica de cefaloglicina em eletrodo de mercúrio tem sido investigado previamente em meio ácido.¹⁶ O comportamento polarográfico do fármaco caracteriza-se por uma onda catódica em potenciais altamente negativos (ao redor de -1 V) atribuído à redução da ligação -C=C- do anel diitroiazínico,¹⁴ porém nenhum método de determinação envolvendo técnicas voltamétricas é proposto na literatura.

As técnicas voltamétricas de redissolução catódica tem se destacado atualmente^{7,19,20} por oferecer metodologias eletroanalíticas com alta sensibilidade, através da utilização de uma simples etapa de pré-concentração. O método baseia-se na deposição anódica ou adsortiva de um composto orgânico eletroativo ou coordenado e sua subsequente detecção voltamétrica.

Deste modo, é objetivo do presente trabalho investigar o comportamento voltamétrico de redissolução catódica de cefaloglicina sobre eletrodo de mercúrio visando o desenvolvimento de um método de análise sensível, rápido e de baixo custo para cefaloglicina em meio aquoso.

Parte Experimental

Equipamentos

Medidas voltamétricas foram realizadas em um analisador voltamétrico EG&PAR modelo 264 A, acoplado a um registrador X-Y modelo RE 0089, agitador magnético 305 e um sistema de eletrodos 303 A. Uma célula voltamétrica da EG&PAR modelo G0057 com capacidade de 3-15 mL, contendo um fio de platina como eletrodo auxiliar, um eletrodo saturado de Ag/AgCl como eletrodo de referência e um eletrodo de gota pendente de mercúrio como eletrodo de trabalho com área média de $2,20 \pm 0,05 \text{ mm}^2$. Todos os potenciais neste trabalho são referidos ao eletrodo de referência citado acima. Os estudos de voltametria de redissolução catódica foram realizados aplicando-se um potencial para acúmulo das espécies no eletrodo de mercúrio (HMDE), sob agitação constante da solução em tempo controlado.

Reagentes e Soluções

Todos os reagentes utilizados são de grau Supra Puro (Merck) e as soluções preparadas com água Milli-Q.

Soluções tampão Britton-Robinson (B-R) 0,04 mol/L foram utilizadas como eletrólito suporte na região de pH 2 -12. Esta solução foi obtida através da mistura de ácido acético, ácido bórico e ácido orto-fosfórico na presença de hidróxido de sódio 1 mol/L. Solução estoque de Cefaloglicina 1×10^{-3} mol/L foi preparada diariamente em meio aquoso, a partir da substância seca com alto grau de pureza, obtida da Glaxo Pharmaceuticals (Inglaterra).

Todos os experimentos foram realizados em temperatura ambiente de $24 \pm 2^\circ\text{C}$.

Procedimento

Todos os voltamogramas de redissolução catódica foram registrados segundo o seguinte procedimento experimental: Uma alíquota de 10 mL de eletrólito suporte foi colocado em cela voltamétrica e desaerado por 10 min com nitrogênio. O volume requerido da solução padrão de cefaloglicina foi então adicionado através de micropipeta. O agitador magnético foi ligado e após desaeramento de 2 minutos, nova gota de mercúrio foi formada procedendo-se a seguir, o acúmulo do fármaco por um intervalo de tempo pré-estabelecido. Após tempo de equilíbrio de 15 segundos, o potencial foi variado catódicamente no modo de varredura linear ou pulso diferencial e os voltamogramas registrados. Uma velocidade de varredura de 5 mVs^{-1} e amplitude de pulso de 50 mV foi usado no modo de pulso diferencial e velocidade de varredura de 20 mVs^{-1} foi utilizado para o modo de varredura linear.

Resultados e Discussão

Voltamogramas de redissolução catódica com varredura linear para Cefaloglicina 1×10^{-6} mol/L em tampão B-R pH 2,5 obtidos após tempo de depósito (t_{ac}) de 20 segundos em potencial de acúmulo (E_{ac}) de -0,6 V, apresenta uma única onda de redução em potencial de -1,0 V, como mostra a [Figura 2](#). A sensível variação de corrente verificado antes (Curva 1) e após pré-acúmulo do analito (Curva 2) é indicativo de que cefaloglicina adsorve espontaneamente sobre a superfície do eletrodo.

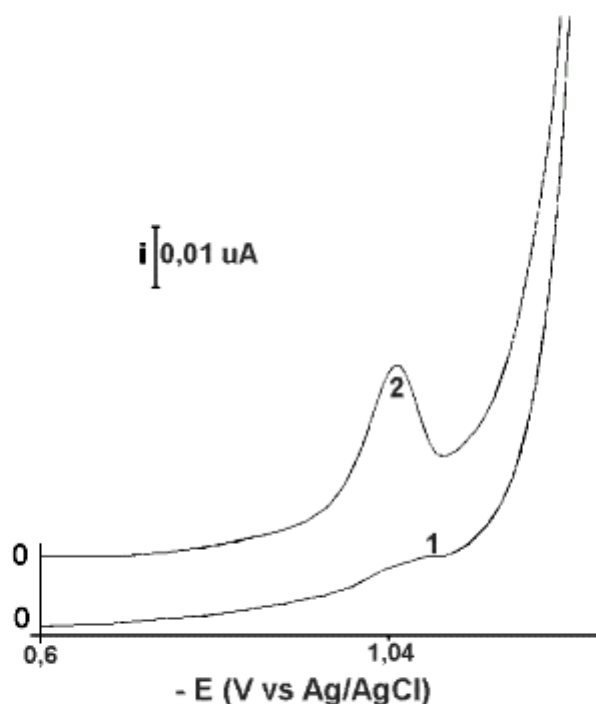


FIGURA 2 - Voltamogramas de redissolução catódica para 1×10^{-6} mol L⁻¹ de Cefaloglicina em tampão B-R pH 2-5; $E_{ac} = -0,6$ V. Curva (1) - tempo de acúmulo 0s; Curva (2) - tempo de acúmulo 20s.

A onda voltamétrica é fortemente influenciada pela variação de pH. A corrente de pico diminui acentuadamente com o aumento nos valores de pH ([Figura 3](#)), desaparecendo completamente em valores de $\text{pH} > 4$. A dependência entre potencial de pico e pH, também é mostrado na [Figura 3](#). Como observado no comportamento polarográfico de cefaloglicina¹⁶ e outras cefalosporinas 3-metileno-substituídas,^{4,14} o comportamento voltamétrico é característico de sistemas de redução envolvendo equilíbrio de protonação acoplado à transferência eletrônica. Valores de $\text{pH} = 2,5$ foi escolhido como melhor condição experimental para monitoramento do fármaco.

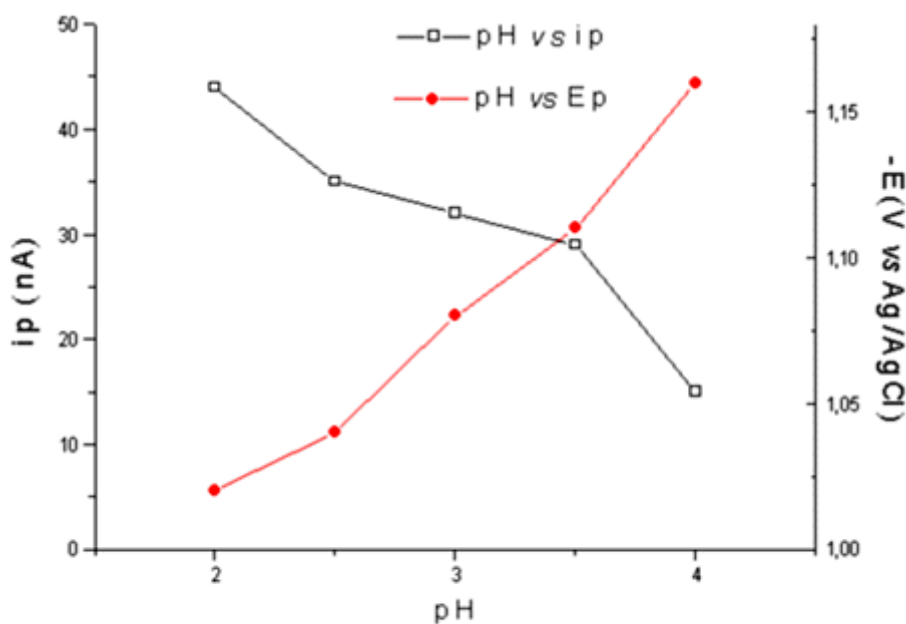


FIGURA 3 - Efeito da variação de pH sobre a corrente de pico dos voltamogramas de redissolução de 1×10^{-6} mol L⁻¹ de Cefaloglicina em tampão B-R. $E_{ac} = -0,60$ s; $t_{ac} = 20$ s.

O estudo do potencial de acúmulo sobre a corrente de pico foi investigado em soluções 5×10^{-7} mol/L de Cefaloglicina em pH 2,5 após 30 seg de acumulação. Nenhuma significativa modificação na intensidade ou posição dos pico de redução foi observada no intervalo de potencial de acúmulo entre 0 e -0,80.

A influência do tempo de acúmulo sobre a corrente de pico obtida de voltamogramas correspondentes à 1×10^{-6} mol/L de Cefaloglicina em tampão B-R pH 2,5 foi investigado no intervalo de 20 a 120 segundos. A corrente de pico aumenta com o tempo de acúmulo, porém a curva voltamétrica apresenta baixa potencialidade analítica devido à sobreposição da descarga do eletrólito-suporte em tempos de acúmulos superiores a 40 segundos, diminuindo drasticamente a sensibilidade do método.

A formação de complexos entre cefalosporina e íons metálicos tais como Cu(II), Ni(II), Co(II) é conhecido da literatura.^{1,2,11,13} Estudos espectrofotométricos têm demonstrado que a formação desses complexos metálicos ocorre preferencialmente em meio alcalino.¹¹

A formação de complexos pouco solúveis entre íon mercuroso gerado na superfície do eletrodo e compostos orgânicos contendo grupos específicos tais como: aminas primárias e tióis^{5,8,15} tem sido descrito na voltametria de redissolução catódica como eficiente etapa de pré-acúmulo. O método envolve a pré-oxidação do mercúrio em potenciais ligeiramente positivos, formação de um filme superficial entre analito/Hg(I) e subsequente redução do complexo formado em varreduras catódicas de potencial.

Considerando que cefalosporinas formam complexos metálicos e Hg(I)/Hg(II) pode ser gerado superficialmente na gota de mercúrio através de simples aplicação de potenciais de acúmulo positivo ($E_{ac} > 0V$), investigou-se a seguir a possibilidade de interação entre cefaloglicina/Hg(I) como método de determinação indireta da droga.

Voltamogramas de redissolução catódica com varredura linear correspondentes à 5×10^{-6} mol/L de cefaloglicina em tampão B-R pH 10 após acúmulo da droga durante 30 segundos (Curva 2) e 180 segundos (Curva 3) em potencial de +0,10 V são mostrados na [Figura 4](#). A ocorrência de um pico de redução muito bem definido em potencial de -0,57 V mostra que a técnica voltamétrica de redissolução catódica pode ser vantajosamente utilizada para pré acúmulo de cefaloglicina na superfície do eletrodo através da formação de complexo mercurioso em meio alcalino.

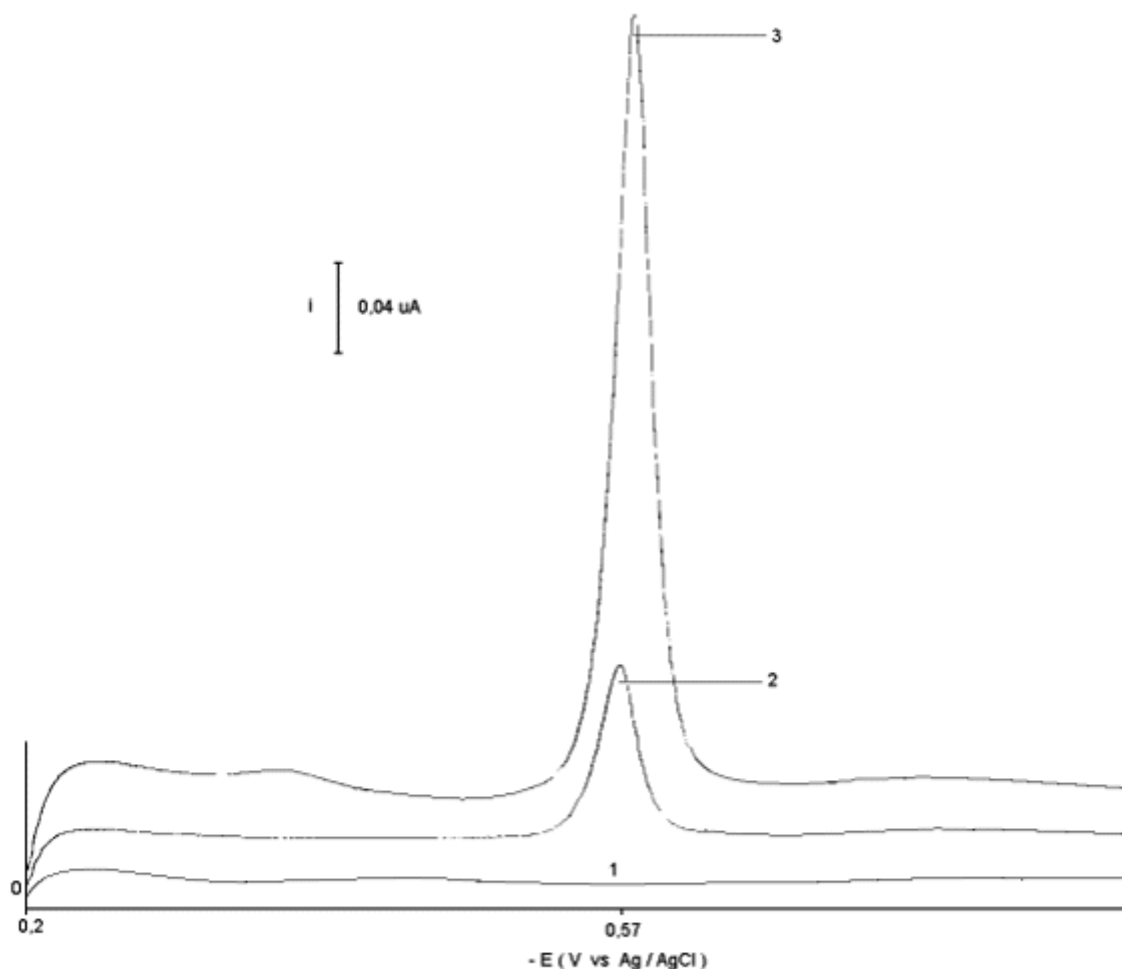


FIGURA 4 - Voltamogramas de redissolução catódica para 5×10^{-6} mol L⁻¹ de Cefaloglicina em tampão B-R pH 10. $E_{ac} = +0,10$ V. Curva (1) - eletrólito suporte; Curva (2) - $t_{ac} = 30$ s; Curva (3) - $t_{ac} = 180$ s.

A influência do pH no comportamento voltamétrico do sistema foi investigado e mostrado na [Figura 5](#). A análise da figura mostra que a corrente de pico aumenta acentuadamente em valores acima de pH neutro. É conhecido da literatura que cefaloglicina apresenta 2 grupos ionizáveis com constante de ionização $pK_{a1} = 1,91$ e $pK_{a2} = 6,90$, atribuídos à dissociação do ácido carboxílico e α -amino grupo, respectivamente.⁵ Desse modo, o aumento da corrente em função do aumento nos valores de pH pode ser indicativo de que a droga é preferencialmente acumulada quando o grupo amino encontra-se na forma não-protonada. Assim, a natureza da onda de redução em potencial de -0,57 V poderia estar relacionada á formação de um complexo superficial entre a função $-NH_2$ presente na

cefalosporina (na forma desprotonada em meio neutro e alcalino) e Hg_2^{2+} gerado através da oxidação superficial do Hg^0 em potenciais positivos.

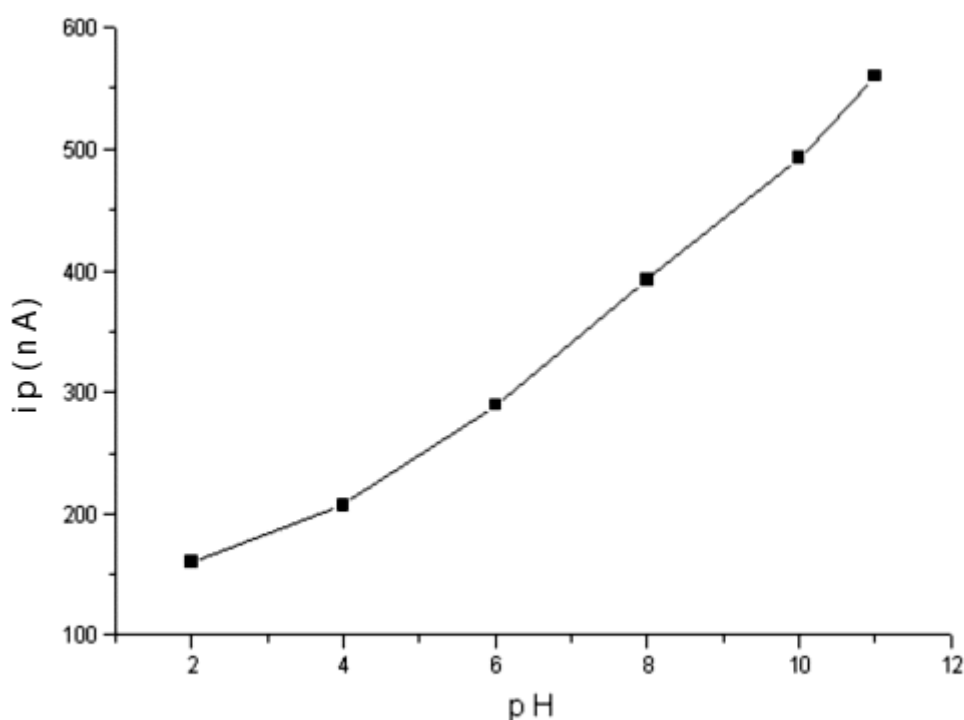


FIGURA 5 - Efeito da variação de pH sobre a corrente de pico para $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de Cefaloglicina. $E_{ac} = +0,20 \text{ V}$; $t_{ac} = 30 \text{ s}$.

Curvas voltamétricas de redissolução catódica de $5 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ de cefaloglicina em tampão B-R pH 10, $E_{ac} = +0,20 \text{ V}$ e $t_{ac} = 180 \text{ s}$ varridas no modo de varredura linear e modo de pulso diferencial foram comparadas e observou-se um aumento de 10 vezes na corrente de pico quando as curvas são registradas com a segunda opção. Deste modo, escolheu-se a técnica voltamétrica de redissolução catódica com pulso diferencial como melhor condição para monitoramento do fármaco.

O estudo da influência do potencial de acúmulo sobre a intensidade dos picos de redução foi investigado no intervalo de $-0,05$ a $+0,20 \text{ V}$, e mostrados na [Figura 6](#). A análise desta figura mostra que após 180 segundos de depósito, soluções $5 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ de Cefaloglicina em tampão B-R pH 10 exibem maior corrente de pico em potencial de acúmulo de $+0,20 \text{ V}$, o qual foi escolhido como melhor potencial para formação do complexo.

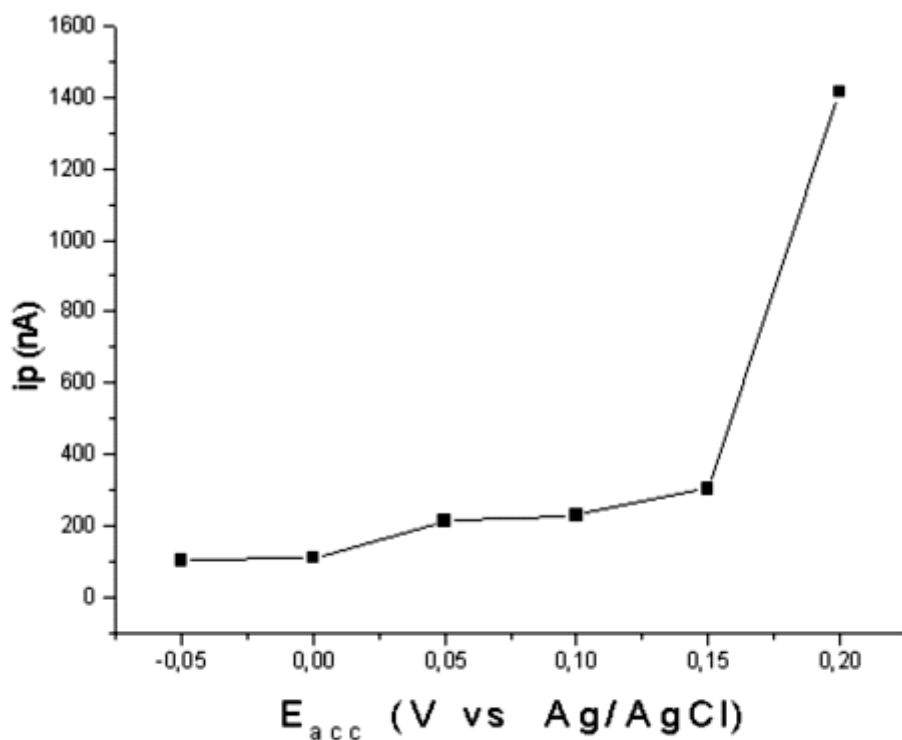


FIGURA 6 - Efeito do potencial de acúmulo sobre a corrente de pico para $5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de Cefaloglicina em tampão B-R pH 10. $t_{ac} = 180 \text{ s}$.

A influência do tempo de acúmulo sobre a corrente de pico em concentração de $5 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ de Cefaloglicina em tampão B-R pH 10 e potencial de acúmulo (E_{ac}) de +0,20 V, em um intervalo de tempo de 0 a 210 segundos é mostrado na [Figura 7](#). A corrente de pico aumenta linearmente com tempos de depósito até 60 segundos e apresenta valores constantes em tempos superiores, mostrando nítida saturação da superfície do eletrodo.

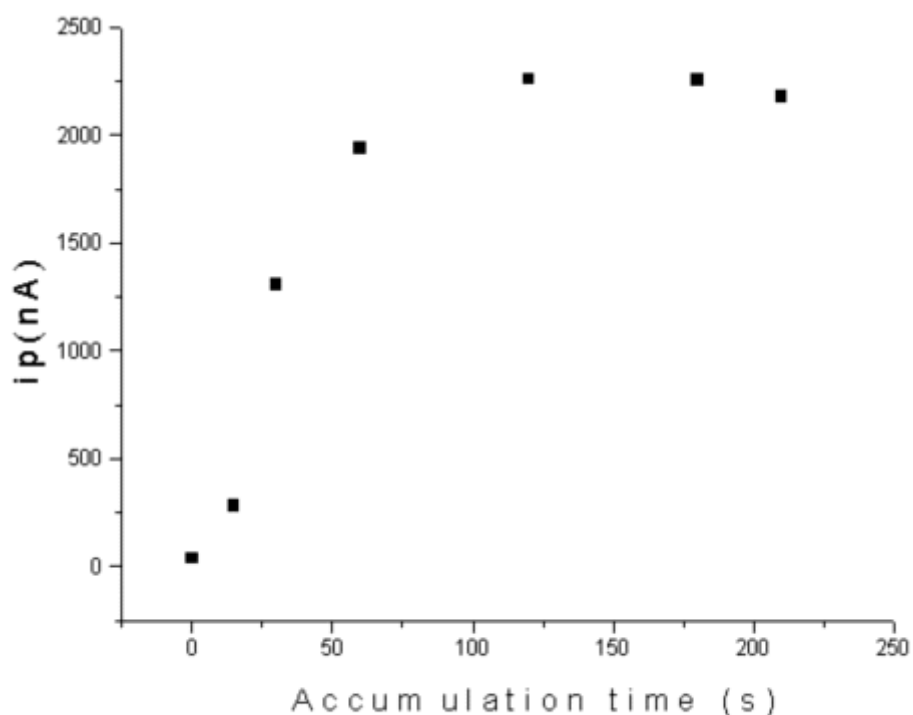


FIGURA 7 - Efeito do tempo de acúmulo sobre a corrente de pico para 5×10^{-7} mol L⁻¹ de Cefaloglicina em tampão B-R pH 10. $E_{ac} = +0,20$ V.

Utilizando-se as melhores condições experimentais para formação do complexo superficial Hg(I)/cefaloglicina definidas anteriormente de $E_{ac} = +0,20$ V e $t_{ac} = 30$ s, construiu-se uma curva de calibração no intervalo de 0,122 a 1,22 mg/mL de cefaloglicina em tampão B-R pH 10, cuja curva é mostrada na [Figura 8](#). Uma relação linear foi obtida em todo o intervalo de concentração investigado, de acordo com seguinte a equação: i_p (nA) = -20,381 + 73,291 x C (C = mol/L, r = 0,996).

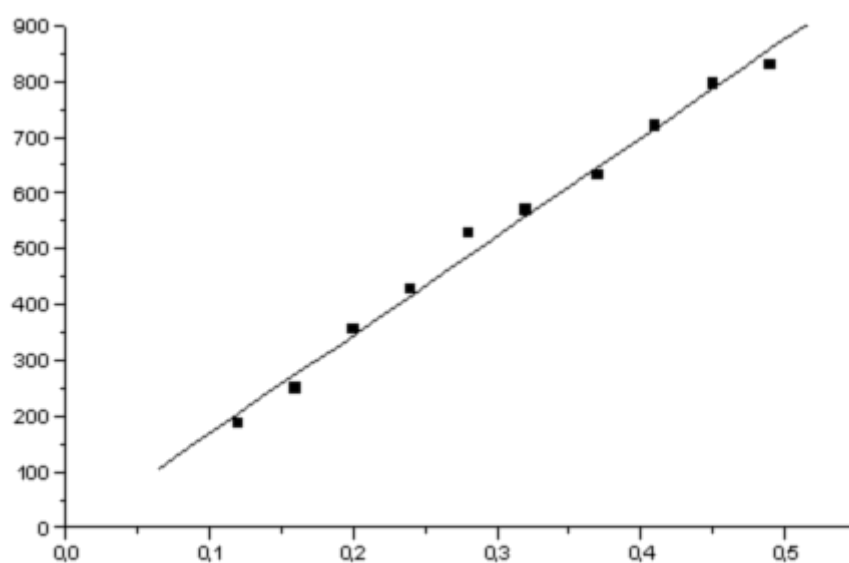


FIGURA 8 - Curva de calibração obtida para Cefaloglicina em tampão B-R pH 10. $E_{ac} = +0,20$ V; $t_{ac} = 30$ s.

O método descrito mostrou-se altamente reprodutível com desvio padrão relativo de 1,4% para 5 análises de 5×10^{-7} mol/L de cefaloglicina. Utilizando-se tempo de acúmulo de 60 segundos, obteve-se um limite de determinação de 12,2 ng/mL e limite de detecção de 5,17 ng/mL para 3 determinações do fármaco. A aplicação do método para amostras de cefaloglicina em meio aquoso mostraram um redescobrimto de 98%.

Conclusão

Estes resultados mostram que embora cefaloglicina seja reduzida voltametricamente em meio ácido, o processo de redução em eletrodo de mercúrio ocorre em potenciais altamente negativos de -1,04 V, complicando a definição das curvas voltamétricas de redissolução. Entretanto, o fármaco pode ser acumulado na superfície do eletrodo como complexo mercurioso em meio alcalino, cuja onda de redução proveniente da redução do complexo formado em potenciais de 0 V apresenta excelente potencialidade analítica. A natureza do processo de redução pode ser explicada pela redução indireta do complexo formado pela interação de Hg_2^{2+} gerado na superfície do eletrodo em potenciais mais positivos que 0,0 V ($\text{Hg}^0 \rightleftharpoons \text{H}_2^{2+} + 2 e^-$) e o grupo **a**-amino da cadeia lateral da droga na forma não-protonada.

A excelente reprodutibilidade e sensibilidade dos resultados apresentados mostram que a técnica voltametria de redissolução catódica oferece um método simples, eficaz e sensível para determinação de traços de Cefaloglicina em meio aquoso.

Agradecimento

Os autores agradecem auxílio financeiro da Fapesp, CNPq, Capes e British Council. Leticia N. C. Rodrigues agradece bolsa de pesquisa da Capes e à Universidade do Sagrado Coração - Bauru pelo afastamento durante realização do Mestrado.

RODRIGUES, L. N. C., FERREIRA, V. S., ZANONI M.V. B. Studies on cathodic stripping voltammetric behaviour Of cephaloglycin in aqueous solution on mercury electrode. *Ecl. Quím. (São Paulo)*, v.23, p.123-134, 1998.

ABSTRACT: Cephaloglycin in B-R buffer pH < 4 is reduced at HMDE very close to the electrolyte discharge (-1.0 V). Nevertheless, in alkaline medium (pH 10) a peak at -0.6V is observed when cephaloglycin is accumulated at accumulation potentials close to +0.20V by formation of an adsorbed mercury complex. The accumulation of this complex is recommended for use in the indirect determination of cephaloglycin by cathodic stripping voltammetry in the range 0.122 to 1.22 mg/mL with pre-concentration for 30 sec at accumulation potential of +0.20V. The detection limit was calculated to be 5,17 ng/mL (n = 3). The relative standard deviation determined from five

determinations at the 5×10^{-7} mol/L level was 1.4 %.

KEYWORDS: Cephaloglycin; cephalosporins; cathodic stripping voltammetry.

Referências Bibliográficas

1 CHOHAN, Z. H. Synthesis of Cobalt (II) and Nickel (II) Complexes of Ceclor (Cefaclor) and preliminary Experiments on their Anaibacterial Character. *Chem. Pharm. Bull.*, v.39, n.6, p.1578-80, 1991.

2 FAZAKERLEY,G.V. & JACKSON,G. E. Metal Íon Coordination by Penicillin and Cephalosporin Antibiotics . *J. Inorg. Nucl. Chem.*, v.37, p.2371-75, 1975.

3 FOGG, A. G.; ABDALLA, M.A. & HENRIQUES,H. P. Titrimetric Determination of Yield of Sulphide Formed by Alkalyne Degradation of Cephalosporins. *Analyst*, v.107, p.449-53, 1982.

4 FOGG, A. G. FAYAD, N. M. Differential Pulse Polarographic Determination of Cephalosporins and Their Degradation Products. *Analytica Chimica Acta*, , v.108, p.205-11, 1979.

5 FORSMAN, V. The Stripping Voltammetric Pattern of Cysteine and Penicillamine at the Mercury Electrode in the Presence of Cu(II), *J. Electroanal. Chem.*, v.152, p. 241-54, 1983.

6 GOODMAN & GILMAN, A. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9.ed. , International Ed., 1996, p.1089-96.

7 HART, J. P. *Electroanalysis of Biologically Important Compounds*. Ellis Horwood Ltd. West Sussen, 1990.

8 HERNÁNDEZ, L.; HERNÁNDEZ, P., RICA, M. & GALÁN, F. Determination of Zeatin in Plant Extracts by Square Wave Stripping Polarography and Differential Pulse Polarography, *Anal. Chim. Acta*, v.315, p.33-9, 1995.

9 HOOGMARTENS, J. H.; REOTS, E.E. & VANDERHAEGHE, H. J. Identification of caphalosporins. II. Color Reations and Thin layer Chromatography. *J. Assoc. Off Anal. Chem.*, v.64, n.1, p. 173-6, 1981.

10 ISSOUPoulos, P. B., Spectrophotometric Determination of certain Cephalosporins using Molybdophosphoric Acid., *Analyst*, July, 1988, v. 113, p. 1083-1086.

11 KAPETANOVIC, V. P., SERAFIMOVSKA, D. S.; VESELINOVIC, D. S. & ZIVANOV-STAKIC, D. S. Polarographic and Spectrophotometric investigation of Cephalclor - Cu (II) complex. *J. Serb. Chem. Soc.*, v. 61, n.3, p.165-72, 1996.

12 KOBAYASHI, K.; SATO, K.; MIZUNO, Y. & KATSUMATA, Y., Cappillary high-performance liquid chromatography-fast atom bombardment mass spectrometry of 24 cephem antibiotics. *Journal of Chromatography B*, v.677, p. 275-90, 1996.

13 MORATA, J. M.; BORRÁS, J. & DONAIRE, A. A. Coordinating properties of the Cephalexine Antibiotic. A Potentiometric Study of the Complexes Formation between Cephalexine and Co(II), Ni(II) and Cu(II) Metal Ions. *Inorganica Chimica Acta.*, v.162, p.113-9, 1989.

- 14 OCHIAI, M.; AKI, O.; MARIMOTO, A.; OKADA, T.; SHINOZAKI, K. & ASAHI, Y. Electrochemical reduction of Cephalosporin Acids. Central Research Division, Takeda Chemical Industries, Ltd. Juso, Osaka, *Japan, J. C. Perkin I*, p.258-62, 1974.
- 15 PALECEK, E.; OSTERYOUNG, J. & OSTERYOUNG, R. A. Interaction of Methylated Adenine Derivatives with the Mercury Electrode, *Anal. Chem.*, v.54, p.1389-94, 1982.
- 16 SIEGERMAN, H. Differential Pulse Polarography of Antibiotics. *Methods Enzymol.*, v.43, p. 373-9, 1975.
- 17 THE MERCK INDEX. 12^a ed., Merck & Co., Inc., 1996.
- 18 WANG, J. *Stripping Analysis Principles, Instrumentations and Applications*. Verlag Chem., 1985.
- 19 _____. *Electroanalytical Chem* A. J. Bard (Ed.) Marcel Dekker: New York, 1989.
- 20 YU, A. B. C.; NIGHTINGALE, C. H. & FLANAGAN, D. R. Rapid Sensitive Fluorometric Analysis of cephalosporin Antibiotics. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 66, n. 2, p. 213-6, 1977.

Recebido em 19.3.1998.

Aceito em 14.4.1998.

* Departamento de Química Analítica - Instituto de Química - UNESP - 14801-970 - Araraquara - SP - Brasil.