

Catedra de chimie fizică (cond.: prof. dr. T. Goina, doctor în chimie)  
a I.M.F. Tîrgu Mureş

## POLAROGRAFIA ŞI POSIBILITĂŢILE EI DE APLICARE IN PRACTICA ŞI CERCETAREA FARMACEUTICĂ

dr. B. Tökés

### 1. Polarografia clasică şi ramurile ei moderne

Au trecut 50 de ani de cînd *Heyrovsky* a pus bazele metodei polarografice. Polarografia clasică, după cum o defineşte creatorul metodei, reprezintă studiul fizico-chimic al proceselor şi fenomenelor care au loc pe electrodul picător de mercur, polarizat prin aplicarea unei diferenţe de potenţial. La început s-a limitat îndeosebi la chimia analitică, lărgindu-şi apoi sfera şi asupra problemelor de cinetică, de mecanism, respectiv de structură chimică. În ultimele două decenii a început o largă activitate de cercetare pentru a elucida detaliat legătura dintre parametrii polarografici şi structura, respectiv reactivitatea chimică a combinaţiilor organice şi anorganice. Urmărirea transformărilor suferite de depolarizanţi la electrodul picător de mercur — electrodul cel mai frecvent folosit în polarografie — permite aprecierea cantitativă a capacităţii diferitelor combinaţii (ioni sau molecule) de a se reduce sau oxida în condiţii constante, folosindu-se un reactiv standard — electronul. În interpretarea actuală a noţiunii, polarografia este denumirea mai multor metode electrochimice, care studiază compoziţia şi proprietăţile fizico-chimice ale soluţiile şi topiturilor — prin determinarea şi interpretarea relaţiilor curent-tensiune — obţinute cu un electrod polarizat în soluţii neagitate. Ulterior, pe lângă cel de mercur, au fost utilizate şi alte tipuri de electrozi: staţionari, rotativi, electrozi solizi etc.

#### 1.1. Noţiuni de bază

În polarografia clasică pentru a studia proprietăţile fizico-chimice ale sistemului considerat, se aplică o tensiune crescîndă la bornele unei celule de electro-liză şi se înregistrează curentul în funcţie de această variabilă (fig. nr. 1). Electrodul de lucru este un electrod picător de mercur a cărui suprafaţă se reînnoieşte periodic, iar cel de referinţă (auxiliar) unul de specia a doua (calomel, sulfat mercurous etc.), sau — mai simplu — un strat de mercur cu suprafaţă mare situat în fundul vasului.

Electrozii auxiliari, fiind nepolarizabili, îşi menţin potenţialul la o valoare constantă, variînd doar potenţialul electrodului de lucru, corespunzător tensiunii aplicate din exterior asupra celei polarografice. Înregistrînd deci intensitatea curentului  $i$  ce trece prin circuitul polarografic sub acţiunea unei tensiuni exterioare  $E$ , se obţine de fapt relaţia curent-potenţial ( $i$ ,  $E$ ) pentru electrodul de lucru, în soluţia dată. Imaginea grafică a acestei funcţii se numeşte polarogramă, curba avînd forma unei trepte pentru fiecare specie care suferă procesul de electrod (depolarizant) (fig. nr. 2). Datele caracteristice unei trepte polarografice sînt: înăl-

țimea (curent limită,  $i_l$ ) și potențialul corespunzător semiînălțimii trepte (potențial de semiundă,  $E_{1/2}$ ). Potențialul de semiundă caracterizează depolarizantul din punct de vedere calitativ și servește la identificarea lui.

În principiu, curenții observați sînt determinați de două procese independente: modul de transport al depolarizantului la suprafața electrodului și procesul de electrod propriu-zis. Asigurînd condițiile ca unicul mod de transport al materiei să fie difuziunea, curentul limită va fi determinat de viteza acesteia și se numește curent de difuziune ( $i_l = i_d$ ). Curentul de difuziune este proporțional cu concentrația depolarizantului (C), relație redată de ecuația lui Ilkovič:

$$i_d = 607 n D^{1/2} m^{2/3} t_1^{1/6} C \quad (1)$$

Această proporționalitate constituie baza analizei polarografice cantitative. În relație  $n$  reprezintă schimbul de electroni în procesul de electrod,  $D$  coeficientul de difuziune al depolarizantului ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ),  $m$  viteza de scurgere a mercurului din capilară ( $\text{mg s}^{-1}$ ),  $t_1$  perioada de picurare (s). Dacă  $C$  este exprimat în mM, curentul  $i_d$  se obține în  $\mu\text{A}$ .

În acest caz, ecuația trepte polarografice (i, E) se redă prin ecuația lui Heyrovsky-Ilkovič:

$$E = E_{1/2} - \frac{RT}{nF} \ln \frac{i}{i_d - i} \quad (2)$$

Potențialul de semiundă  $E_{1/2}$  este legat de potențialul normal  $E_0$  al sistemului redox studiat:

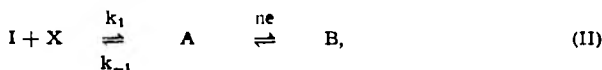
$$E_{1/2} = E_0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{f_A}{f_B} \left( \frac{D_A}{D_B} \right)^{1/2} \quad (3)$$

$f_A$  și  $f_B$  sînt coeficienții de activitate ai depolarizantului, respectiv al produsului reacției de electrod:



$k_f$  și  $k_b$  reprezintă constantele de viteză eterogene ale reacțiilor electrochimice directe, respectiv inverse.  $E_{1/2}$  nu depinde nici de concentrația depolarizanților, nici de parametrii capilare.

În anumite condiții, transportul depolarizantului spre electrod poate fi influențat de reacții chimice care tind, împreună cu difuziunea, să compenseze modificările de concentrație survenite în vecinătatea electrodului în timpul electroлізу. Acest fenomen se întâlnește atunci cînd substanțele participante la procesul de electrod sînt produse sau eliminate prin reacțiile chimice din vecinătatea electrodului. În acest mod, curenții polarografici pot fi funcții ale vitezei acestor reacții, constituind o grupă aparte — grupa curenților cinetici. Dacă în cursul unei astfel de reacții substanța inițială se regenerează, curentul se numește *catalitic*. Teoria exactă a curenților cinetici a fost elaborată de Koutecky. Această teorie permite determinarea vitezei unor reacții foarte rapide, inaccesibile altor metode. De exemplu, dacă componentul polarografic activ A se formează dintr-o substanță electroinactivă I cu partenerul X printr-o reacție anterioară procesului de electrod:



curentul cinetic  $i_c$  se exprimă prin relația:

$$i_c = i_d [X] F (\chi_1). \quad (4)$$

în care  $i_d$  este intensitatea curentului ipotetic de difuziune pură, iar  $\chi_1$  o funcție a timpului de picurare și a constantelor de viteză ( $K = k_{-1}/k_1$ ):

$$\chi_1 = \left[ \sqrt{\frac{12}{7}} \right] \sqrt{\frac{k_1 t_1}{K}} \quad (5)$$

În cazuri similare și curba treptei polarografice se redă prin relații matematice mult mai complexe.

Procesul de electrod propriu-zis poate decurge reversibil sau ireversibil. Criteriul reversibilității procesului de electrod este raportul dintre viteza procesului de transport și cea a transferului de electron. Se poate demonstra că la potențialul standard  $E_0$  al sistemului redox (I), constantele de viteză ale reacției de electrod directe și inverse sînt egale:  $k_f = k_b = k_s$ , iar constanta  $k_s$  este de fapt mărimea care servește la stabilirea gradului de reversibilitate al procesului electrochimic. În polarografie, procesele electrochimice se consideră ireversibile dacă viteza transportului de materie este comparabilă cu viteza reacției electrochimice propriu-zise, sau este mai mare decît aceasta. Aceste procese se caracterizează prin valoarea  $k_s < 3 \cdot 10^{-5}$  cm s<sup>-1</sup>. Procesul de electrod este practic reversibil dacă  $k_s > 2 \cdot 10^{-2}$  cm s<sup>-1</sup>.

Forma curbei polarografice pentru procesele reversibile de electrod este redată prin ecuația lui Heyrovsky-Ilkovič. În cazul reacțiilor ireversibile de electrod, dacă transportul este asigurat numai prin difuziune, relația curent-potențial dedusă pe baza teoriei descărcării lente, este următoarea:

$$E = E_{1/2} - \frac{RT}{\alpha n_a F} \ln \frac{i}{i_d - i} \quad (6)$$

În formulă  $\alpha$  reprezintă coeficientul de transfer al electronului, iar  $n_a$  numărul electronilor transferați în etapa determinată de potențial

Potențialul de semiundă  $E_{1/2}$  al treptelor ireversibile, spre deosebire de cel al treptelor reversibile, nu este determinat de parametru termodinamic  $E_0$ , ci depinde de constanta de viteză a procesului de electrod și de perioada de picurare a electrodului de mercur:

$$E_{1/2} = \frac{RT}{\alpha n_a F} \ln \frac{0,886 k_f}{D^{1/2}} + \frac{RT}{2 \alpha n_a F} \ln t_1 \quad (7)$$

Intervalul de valori  $k_s$ , cuprins între  $3 \cdot 10^{-5}$  și  $2 \cdot 10^{-2}$  cm s<sup>-1</sup>, corespunde tranziției de la procesele ireversibile la cele reversibile. Deoarece tranziția de la procesele ireversibile la cele reversibile se realizează într-un interval îngust al valorilor  $k_s$ , rezultă că majoritatea proceselor sînt fie complet reversibile, fie complet ireversibile.

Sub aspect practic, determinările polarografice se efectuează într-o soluție cu o anumită compoziție, denumită *soluție de bază*, căreia i se adaugă substanța care va fi dozată. Soluția de bază conține de obicei un electrolit indiferent, într-o concentrație de cel puțin 50 de ori mai mare decît cea a depolarizantului, precum și combinații care stabilizează pH-ul la o anumită valoare, complexanți, eventual substanțe tensioactive. Componentii soluției de bază îndeplinesc următoarele funcții: a) asigură soluției de cercetat o conductibilitate electrică potrivită; b) determină starea depolarizantului în soluție (ion simplu hidratat, complex, compuși protonați); c) elimină transportul depolarizantului prin migrare, asigurînd astfel exclusivitatea difuziunii ca modalitate de transport; d) determină domeniul de potențial utiliza-

bil; e) substanțele capilaractive (tenside) suprimă maximele polarografice; f) determină o viscozitate potrivită a soluției, necesară asigurării difuziunii uniforme a substanței și a formării uniforme a picăturilor de mercur; g) asigură condiții favorabile reacției, mecanismul sau cinetica căreia se studiază prin această metodă.

Prima problemă de rezolvat la efectuarea unei cercetări polarografice constă în găsirea și experimentarea unei soluții de bază potrivite.

Dintre tratatele fundamentale de polarografie amintim pe cele ale lui J. Heyrovsky și J. Kuta („Tratat de polarografie“, Ed. Acad. R.P.R. 1959, respectiv „Osnovy polyarografii“, Mir, Moskva, 1965), I. M. Kolthoff și J. J. Lingane („Polarography“, Intersc., New York—London, 1952), J. Heyrovsky și P. Zuman („Practical Polarography“, Academic Press, London—New York, 1968).

## 1.2. Metode polarografice recente

În ultima vreme au apărut o serie de procedee polarografice care aduc metodei clasice unele îmbunătățiri. Modificările au în general următoarele obiective: a) mărirea sensibilității prin eliminarea curentului de capacitate; b) mărirea puterii de rezoluție a metodei prin micșorarea diferenței dintre potențialele de semiundă a doi depolarizanți, care este necesară pentru a obține două unde separate; c) extinderea posibilităților polarografiei clasice în vederea unor studii cinetice, de adsorbție etc.

Metodele cele mai semnificative care contribuie la realizarea acestor deziderate sînt:

1. Metodele cu excitație prin tensiune: a) metodele cuasistaționare: polarografia potențiostatică și metodele derivate (polarografia diferențială, cea derivată și cea prin baleiaj); b) metodele staționare: polarografia osciloscopică, cea în curent alternativ și cea pulsatorie.

2. Metodele cu excitație prin curent: polarografia amperostatică și polarografia osciloscopică în curent alternativ.

Aceste metode și tehnici sînt tratate amănunțit în „Modern Polarographic Methods“ de H. Schmidt și M. von Stackelberg (Academic Press, New York—London, 1963).

## 2. Domeniile principale de investigație ale polarografiei.

### Posibilități de aplicare în practica și cercetarea farmaceutică

#### 2.1. Analiza chimică

După cum am mai subliniat, metoda polarografică a avut un timp îndelungat ca obiect principal analiza chimică calitativă ( $E_{1/2}$ ) și cantitativă ( $i_d$ ). Ea permite dozarea depolarizanților anorganici și organici în limitele de concentrații cuprinse între  $10^{-5}$  și  $10^{-2}$  M și în volume foarte mici de câteva sutimi de ml. Este deci o metodă microanalitică, avînd o precizie de 1—3%. Avantajele ei constau în sensibilitate, rapiditate, selectivitate și consum mic de substanță. Prin diferite metode indirecte se pot doza și substanțe inactive din punct de vedere electrochimic, coloizi, substanțe tensioactive etc. Dozarea se poate efectua și sub formă de titrare, dacă cel puțin unul din componenți (reactanți, produși) este polarografic activ (*titrare amperometrică*). Literatura de specialitate este foarte vastă. Ea este cuprinsă în numeroase tratate (de ex.: I. M. Kolthoff și J. J. Lingane: „Polarography“, Intersc., New York—London, 1952; T. A. Krjukowa, S. I. Sinjakowa și T. V. Arefjeva: „Polarographische Analyse“, Leipzig, 1964; J. Proszk, K. Györbiró și V. Cielezsky: „Polarografia“, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1964), revistele polarografice de spe-

cialitate („Review of Polarography“ editată în Japonia, „Journal of Polarographic Society“ din Londra, „Leybolds Polarographische Berichte“ din Köln etc.), precum și în revistele diverselor ramuri de științe.

În ceea ce privește rezolvarea problemelor farmaceutice, domeniul principal de aplicare al metodei polarografice rămâne și astăzi cel analitic, cuprinzând controlul purității, controlul stabilității, analiza produșilor intermediari și analiza constituenților principali ai preparatelor medicamentoase. Exemplele din acest domeniu sînt extrem de numeroase (vezi: M. Brezina și P. Zuman: „Die Polarographie in der Medizin, Biochemie und Pharmazie“, Akad. Verlag, Leipzig, 1956), va trebui deci să ne limităm doar la aspectele cele mai reprezentative. În toate etapele, atît compușii anorganici cît și cei organici se urmăresc pe baza proceselor catodice sau anodice posibile. În cazul compușilor organici, analiza polarografică presupune prezența în moleculă a cel puțin uneia din grupările: nitro, nitrozo, chinoidă, peroxidică, sulfhidril, carbonil, halogen, legături C=C etc. Substanțele inactive polarografic se pot activa prin anumite reacții chimice adecvate (de ex. morfina prin transformare în 2-nitrozomorfină).

În anumite procese, cînd speciile electroactive se formează ca intermediari în timpul fabricației, polarografia se poate aplica pentru controlul de calitate și uneori chiar pentru alegerea condițiilor optime de reacție. De exemplu, la sinteza cofeinei se determină 1,3-dimetil-4-amino-5-nitrozouracilul sau, la sinteza norsulfazonului, se analizează cloracetaldehida.

Preocuparea majoră a cercetătorilor se concentrează asupra analizei constituenților principali ai substanțelor medicamentoase. Lucrările aparținînd acestui domeniu cuprind practic toate categoriile de substanțe cu acțiune farmacodinamică: dezinfecțanți (formaldehidă, derivați ai acridinei, derivați mercurici), sedative și hipnotice (barbiturice, tiobarbiturice, derivați de hidantoină, tiohidantoină, ditiohidantoină, amidine), anestezice (percaină, falicaină, tiofalicaină, intercaină, cloroform), anti-piretice, analgezice, antireumatice (atofan, fenacetină, antipirină), medicamente cu acțiune asupra presiunii sanguine (hidrazinoftalazine, flavonide), antibiotice (cloramfenicol, peniciline, streptomycină, tetraciclina), terpene (dehidropinolonă, pinocarvonă, carvonă, pulegonă, izotuionă, citral, citronelal), alcaloizi (anabazină, chinotoxină, chinină, chinidină, cotarnină, hidrastină, berberină, sanguinarină, narceină, papaverină), vitamine (tiamină, riboflavină, piridoxol, piridoxal, piridoxamină, acid nicotinic, acid ascorbic, menadionă, carotine), hormoni (dezoxicorticosteronă, testosteronă, androstendionă, adrenalină), glicozide cardiotonice (strofantină, gixtoxygenină), acizi biliari, sapogenine, agenți de contrast, anticoagulanți (pelentan, indandionă, sintrom), parasimpaticomimetice și simpaticomimetice (prostigmină, amfedrină), analeptice (cardiazol), antihistaminice (benadril) etc. Trebuie citate în acest sens lucrările vaste ale lui Y. Asahi, K. Matsumoto, P. Zuman.

Polarografia s-a aplicat și pentru studiul componentelor din materiale biologice. Cunoscuta „probă Brdička“, de pildă, servește la diagnosticarea cancerului din serul sanguin.

În Farmacopeea Română ed. VIII figurează un capitol general „Determinări polarografice“, iar acenocumarolul, drajeurile și soluția oftalmică de cloramfenicol, injecția de menadionă se dozează polarografic.

## 2. 2. *Cercetări de structură chimică, de mecanism chimic și electrochimic. Corelarea parametrilor polarografici cu efectul biologic*

Cercetarea sistematică a legăturii dintre parametrii polarografici și structura chimică impune examinarea a două laturi ale acestei probleme: a) mecanismul procesului care duce la apariția treptei polarografice și care se compune din procesele de electrod propriu-zise și din reacțiile chimice conexe; b) corelația dintre potențialele de semiundă și structura moleculei organice și anorganice. Cele două aspecte sînt strîns legate unul de altul: nu se pot trage concluzii privitoare la influența structurii moleculei asupra valorii lui  $E_{1/2}$ , dacă nu se cunoaște natura procesului căruia i se datorește treapta polarografică dată. Pe de altă parte, după caracterul influenței exercitate de structură asupra lui  $E_{1/2}$  se poate preciza uneori care sînt grupările funcționale participante la procesul electrochimic. Aceste cercetări servesc totodată ca fundamentare teoretică la elaborarea metodelor analitice.

Dezvoltarea impetuoasă a teoriei chimiei în ultimele decenii a făcut posibilă descrierea cantitativă a legăturii dintre structura depolarizantului și comportarea lui polarografică. Tratarea cantitativă se bazează în primul rînd pe așa-numitele „relații liniare de energie liberă“. Zuman, extinzînd relațiile lui Hammett și Taft asupra reacțiilor de electrod, a arătat că în general, efectele polar, mezomer și steric ale substituenților se însumează, ducînd la deplasarea potențialului de semiundă:

$$\Delta E_{1/2} = P + M + S \quad (8)$$

Alegînd în mod adecvat termenii seriei de reacție electrochimică, efectele substituenților se pot separa. Deci, datele electrochimice permit cercetarea cantitativă a efectelor structurale asupra proprietăților depolarizanților.

Aceste considerente s-au aplicat în numeroase cazuri și în studiul unor compuși de importanță farmaceutică. De exemplu, la seria derivaților nitroaromatici, la cei ai camforului, la substanțele citotoxice pe bază de etilamină, la mai multe serii ale derivaților fenilazopirimidinei, la steroizi etc. Dată fiind corelația dintre structura chimică și parametrii polarografici pe de o parte și corelația dintre structură și efectul farmacologic pe de altă parte, rezultă necesitatea existenței unei strînse legături între efect și mărimile polarografice. Corelația dintre potențialul de semiundă și activitatea farmacologică a fost studiată de mai mulți autori (Brezina, Kolthoff). Rezultatele obținute pînă în prezent nu se pot generaliza încă. A fost corelată și activitatea supresoare de maxime, factor ce influențează mult efectul farmacologic. Jaffé a făcut primele încercări ample de a aplica principiul liniarității energiei libere la studiul mecanismelor de reacție ale sistemelor biochimice și chiar ale organismelor vii.

Metoda polarografică s-a dovedit a fi o metodă adecvată și pentru cercetarea reacțiilor chimice, pentru studiul cineticii și a mecanismului acestora. În cazul reacțiilor lente, se înregistrează variația concentrației unuia din componenții participanți la reacția chimică, prin măsurarea

intensității curentului de difuziune în funcție de timp. La cercetarea reacțiilor rapide (procese protolitice, reacții de hidroliză rapidă, reacții de complexare etc.), pentru calcularea constantelor de viteză, respectiv de echilibru, se folosesc foarte des curenții cinetici, operînd cu ajutorul unor relații de tipul (4) și (5). Din variația constantelor de viteză în funcție de temperatură, se calculează ulterior energia, entalpia, entropia și entalpia liberă de activare, iar pentru procesele reversibile — variația entalpiei, entropiei și a entalpiei libere de reacție. Dintre substanțele farmaceutice s-a studiat polarografic, între altele, cinetica și mecanismul autooxidării acidului ascorbic, a inactivării penicilinelor, aureociclinei, hidroliza alcalină a streptomisinei, deosebirile dintre formele tautomere ale streptomisinei, cristaline și amorfă.

Astăzi polarografia pătrunde în toate disciplinele farmaceutice, interesînd deopotrivă pe analist, biochimist, fizicochimist, farmacist și medic. Rezultatele ei, împreună cu celelalte metode de analiză și de cercetare, contribuie la rezolvarea unor probleme variate și subtile.

Sosit la redacție: 12 aprilie 1972.

Bibliografia la autor.

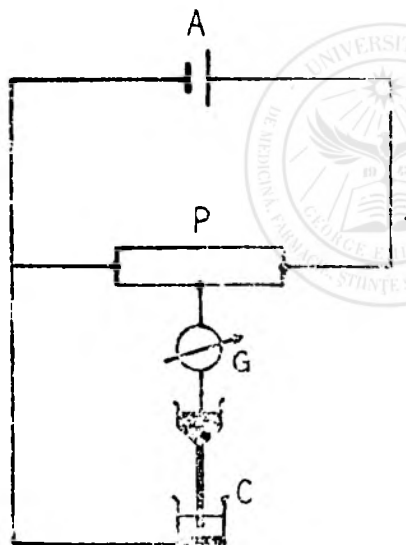


Fig. nr. 1:

Schema montajului polarografic:  
 A = acumulator de 2-4 volți,  
 P = potențiomter,  
 G = galvanometru,  
 C = celula polarografică

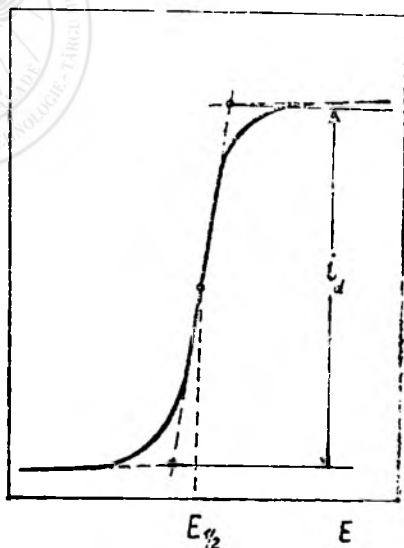


Fig. nr. 2. Treapta polarografică