

СПЕКТРОФЛУОРОМЕТРИСКО ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА ЦИСТАФОС

Д. Андовски, И. Спиревска, Р. Боневски*

Институт за хемија, Природно-математички факултет, Скопје

*Високи војно-технички школи на копнената војска, Загреб

Разработена е спектрофлуорометриска аналитичка метода за определување на цистафосот. Најдено е дека методата е погодна за концентрации на цистафос од $1 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-3}$ mol dm⁻³, при што релативната грешка е под 3,7%.

ВОВЕД

Цистафосот (мононатриумова сол на S-аминоетилтиофосфорна киселина) е радиопротектор кој се одликува со мала токсичност и покажува добар заштитен ефект при радиоактивно зрачење, па наоѓа широка примена во праксата.

Во литературата, освен работата на Akerfeld /1/, не се сретнуваат други податоци за квантитативното определување на цистафосот. Заради тоа сметавме дека е корисно да се разработи аналитичка метода за определување на овој радиопротектор.

Познато е дека соединенијта од типот на тиофосфатите покажуваат способност да ги инхибираат оксидационите процеси /2/, што е еден од условите за да може да се употребат како радиопротектори. Со оглед на тоа што адреналинот (епинефринот) е подложен на оксидационо распаѓање во алкална средина, претпоставивме дека постои можност да се инхибира оваа реакција со примена на цистафосот и на тој начин да се дојде до погодна аналитичка метода за неговата определување. Инаку, оксидацијата на адреналинот може успешно да се прати спектрофлуорометриски /3/. Имено, производите добиени со оксидационото распаѓање на адреналинот имаат способност да флуоресцираат.

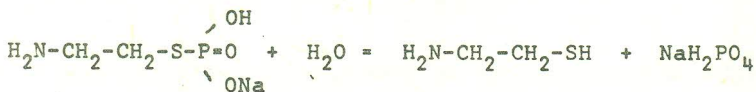
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН ДЕЛ

Мерењата се вршени на спектрофлуорометар Perkin-Elmer model 3000, при ексцитација на бранова должина од 364 nm и емисија на бранова должина од 510 nm. Употребени се кварцни кивети со дебелина од 1 cm. Мерењата се вршени на собна температура.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Испитувањата покажаа дека цистафосот во областа на концентрации од $1 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-3}$ mol dm⁻³ не покажува влијание на оксидацијата на адреналинот, чија концентрација е $2 \cdot 10^{-4}$ mol dm⁻³ во базна средина ($c(\text{NaOH}) = 5 \cdot 10^{-3}$ mol dm⁻³).

Познато е дека цистафосот хидролизира при што, веројатно, се добива моносодиум фосфат и цистеамин:

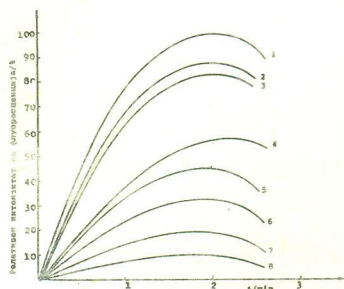


Формираниот цистеамин се очекува да ја инхибира оксидацијата на адреналинот. Всушност, заштитниот ефект од радиоактивно зрачење на цистафосот се смета дека се должи токму на ваквата негова разградба во организмот под дејство на ензимите и киселината во желудникот /4/. Меѓутоа, хидролизата при условите применети во нашата експериментална работа, веројатно, тече многу споро. Со понатамошните испитувања е извршена хидролиза на цистафосот во поконцентриран раствор од натриум хидроксид ($c = 1 \cdot 10^{-2}$ mol dm⁻³). Се покажа дека производите добиени со хидролиза на цистафосот за време од десет минути ја инхибираат оксидацијата на адреналинот (сл.1). Ефектот на инхибиција се намалува ако хидролизата се врши подолго од еден саат.

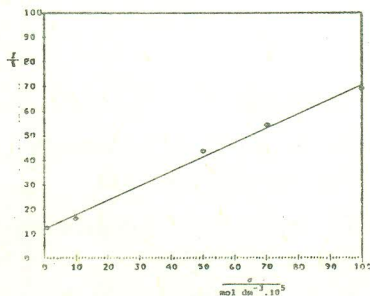
Од добиените податоци за максималната флуоресценција на референтниот раствор ($\bar{h}$) и на растворите со различна концентрација на цистафосот (h) е пресметан степенот на инхибирање (I) по изразот:

$$I = (1 - h/\bar{h}) 100$$

Зависноста помеѓу степенот на инхибицијата и концентрацијата на цистафосот е права. Најзиниот правец е определен со регресиона анализа по методата на најмали квадрати и е најден фактор на корелација 0,997. Определувањата на непознатата концентрација може едноставно да се изврши на основа на добиената калибрациона права, која е прикажана на сл. 2.



Сл. 1. Промека на релативниот интензитет на флуоресценција со време за растиор на еденали ($c=2 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) во една средина ($c(\text{NaOH})=5 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) и при различни концентрации на хидролизирани производ на цистафос (1-0; 2- $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$; 3- $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$; 4- $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$; 5- $7 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$; 6- $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$; 7- $3 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$; 8- $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$)



Сл. 2. Промека на степенот на инхибиција на оксидацијата на еденали ($c=2 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) во една средина ($c(\text{NaOH})=5 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) со концентрацијата на хидролизирани производ на цистафос.

Методата дава можност да се определуваат концентрации на цистафос од $1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ со релативна грешка под 3,7%.

Прецизноста на методата е испитана со статистичка обработка на резултатите (табела 1), добиени со мерење на десет проби со концентрација $6,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$. Статистичките параметри се наведени во табелата 2 и тие се во границата на дозволените.

Табела 1. Податоци за определување на прецизноста на спектрофлуорометриската метода за определување на цистафос

Измерена вред.	Средна вред.	Девиијација од	Релативна грешка
$\mu(\text{цистафос})$	μg	сред. вред.	
μg		μg	
0,9426		0,0008	0,08
0,9768		0,0350	3,71
0,9299		-0,0119	-1,26
0,9524		0,0116	1,23
0,9299	0,9418	-0,0119	-1,26
0,9378		-0,0040	-0,42
0,9299		-0,0119	-1,26
0,9534		0,0116	1,23
0,9426		0,0008	0,08
0,9221		0,0197	-2,09

Табела 2. Статистички параметри за спектрофлуорометриското определување на цистафос, пресметани од податоците дадени во табелата 1.

Варијанца	Стандардно одстување	Стандардна девијација на аритмет.	Релативна стандардна девијација	Поправе на варијанца
μg	μg	μg		μg
0,00023	0,015	0,0047	0,0159	0,0547
Интервал на веродостојност на 95% веројатност				
(0,9418 $\pm$ 0,011) μg				

Спектрофлуорометриската метода за определување на цистафос преку инхибирање на оксидацијата на адреналинот во базна средина е брза, едноставна и точна. Погодна е за определување на цистафос по подолго складирање, а веројатно со извесна модификација и за определување на цистафос во биолошки материјали.

ЛИТЕРАТУРА

1. S. Akerfeld, Acta Chem. Scand., 15, 575 (1941).
2. A. Milovanović, M. Čosić, XII simpozijum, JDZZ, 1983, Zbornik radova str. 233.
3. R. Bonevski, J. Momirović-Čuljat, L. Balint, J. Pharm. Sci. 67, 1474 (1978).
4. V. S. Šoškova, J. I. Kurganova, Farmakol. Toksikol., 38, 620 (1975).

ABSTRACT

SPECTROFLUOROMETRIC DETERMINATION OF CYSTAPHOS

D. Andovski, I. Spirevska, R. Bonevski*

Institut za hemija, Prirodno-matematički fakultet, Skopje

*Visoki vojno-tehnički školi na kopnenata vojska, Zagreb

A spectrofluorometric analytical method for determination of the cystaphos has been worked out. It was found that this method is convinient for determination of cystaphos in the range of concentracion between $1 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-3}$ mol dm⁻³, with the relative error less than 3,7%.