

UNIVERZITA KARLOVA
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýzy



Kateřina Málková

VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ NITROFURANTOINU NA PRACOVNÍ ELEKTRODĚ Z ULTRAČISTÉHO GRAFITU

Voltammetric Determination of Nitrofurantoin on an Ultrapure Graphite
Working Electrode

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: prof. RNDr. Vlastimil Vyskočil, Ph.D.

Praha 2024

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 20. srpna 2024.

Kateřina Málková

Poděkování

Nejprve bych chtěla poděkovat svému školiteli prof. RNDr. Vlastimilu Vyskočilovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, přístup a trpělivost v průběhu celé mé bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat mým kamarádům za podporu nejen během studia na univerzitě.

V poslední řadě bych chtěla poděkovat mé rodině, za to že mi umožnila žít a studovat v Praze a byla mi vždy oporou.

Abstrakt

Tato bakalářské práce byla věnována studiu elektrochemického chování léčiva nitrofurantoinu a nalezení optimálních podmínek pro jeho voltametrické stanovení na pracovní elektrodě z ultračistého grafitu (UTGE) v tříelektrodovém zapojení, pomocí DC voltametrie (DCV) a diferenční pulzní voltametrie (DPV).

Optimální podmínky stanovení nitrofurantoinu byly studovány v závislosti na pH vodného roztoku Brittonova-Robinsonova pufru (BRP). Jako nejlépe vyhovující prostředí pro voltametrické stanovení nitrofurantoinu byla zvolena pH 2 a 3, ve kterých byly dále proměřeny opakovatelnosti stanovení a kalibrační závislosti v rozmezí $1 \cdot 10^{-7}$ až $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l. Dosažené meze stanovitelnosti (*LOQ*) a meze detekce (*LOD*) nitrofurantoinu byly na UTGE pro metodu DCV 0,11 $\mu\text{mol/l}$ a 0,034 $\mu\text{mol/l}$ a pro DPV 0,10 $\mu\text{mol/l}$ a 0,031 $\mu\text{mol/l}$ při pH 2; při pH 3 pak pro metodu DCV 0,11 $\mu\text{mol/l}$ a 0,034 $\mu\text{mol/l}$ a pro metodu DPV 0,13 $\mu\text{mol/l}$ a 0,039 $\mu\text{mol/l}$.

Voltametrické metody byly využity pro stanovení léčiva nitrofurantoinu v lékové formě Furolin 100 mg/tableta. Voltametrické metody byly následně porovnány s analytickou metodou UV–VIS absorpční spektroskopie.

Klíčová slova

Elektrochemie

Analýza léčiv

DC voltametrie

Diferenční pulzní voltametrie

Nitrofurantoin

Elektroda z ultračistého grafitu

Abstract

This bachelor thesis was devoted to the study of the electrochemical behaviour of the drug nitrofurantoin and finding the optimal conditions for its voltammetric determination on a working electrode made of ultra pure graphite (UTGE) in a three-electrode setup, using DC voltammetry (DCV) and differential pulse voltammetry (DPV).

The optimum conditions for the determination of nitrofurantoin were studied as a function of the pH of the aqueous Britton-Robinson buffer (BRP) solution. The pH 2 and 3 were selected as the most suitable media for the voltammetric determination of nitrofurantoin, in which the repeatability of the determination and calibration dependencies in the range of $1 \cdot 10^{-7}$ to $1 \cdot 10^{-4}$ mol/L were further investigated. The achieved limits of quantification (*LOQ*) and limits of detection (*LOD*) of nitrofurantoin on the UTGE were 0.11 $\mu\text{mol/L}$ and 0.034 $\mu\text{mol/L}$ for the DCV method and 0.10 $\mu\text{mol/L}$ and 0.031 $\mu\text{mol/L}$ for the DPV method at pH 2; at pH 3, they were 0.11 $\mu\text{mol/L}$ and 0.034 $\mu\text{mol/L}$ for the DCV method and 0.13 $\mu\text{mol/L}$ and 0.039 $\mu\text{mol/L}$ for the DPV method.

The voltammetric methods were used for the determination of the drug nitrofurantoin in the dosage form Furolin 100mg/tablet. The voltammetric methods were then compared with the analytical method UV–VIS absorption spectroscopy.

Key words

Electrochemistry

Analysis of Pharmaceuticals

DC Voltammetry

Differential Pulse Voltammetry

Nitrofurantoin

Electrode of Ultrapure Graphite

Seznam použitých zkratk

<i>A</i>	absorbance
BRP.....	Brittonův-Robinsonův pufr
<i>c</i>	molární koncentrace [mol/l] nebo [μmol/l]
DCV.....	DC voltametrie
DPV.....	diferenční pulzní voltametrie
<i>E</i>	elektrodotový potenciál [mV]
<i>E</i> _{fin}	konečný elektrodotový potenciál [mV]
<i>E</i> _{in}	počáteční elektrodotový potenciál [mV]
<i>E</i> _p	elektrodotový potenciál píku [mV]
EtOH.....	ethanol
<i>I</i> _p	elektrodotový proud píku [nA]
<i>LOD</i>	mez detekce [mol/l]
<i>LOQ</i>	mez stanovitelnosti [mol/l]
<i>m</i>	hmotnost [mg]
<i>n</i>	počet měření
pH.....	záporný dekadický logaritmus aktivity oxoniových iontů
<i>r</i> ²	koeficient determinace
UTGE	elektroda z ultračistého grafitu
NFT.....	nitrofurantoin

Obsah

1. Teoretický úvod	8
1.1. Cíl práce	8
2. Teoretická část	9
2.1. Pracovní elektroda	9
2.2. Nitrofurantoin	10
2.2.1. Mechanismus účinku nitrofurantoinu	10
2.2.2. Biologická dostupnost.....	11
2.2.3. Nežádoucí účinky	11
2.2.4. Analýza nitrofuránů	11
3. Experimentální část	12
3.1. Reagencie	12
3.2. Aparatura	12
3.3. Pracovní postupy	13
3.3.1. Voltametrie	13
3.3.2. Kalibrační závislost.....	13
3.3.3. Stanovení v léčivu	14
3.3.4. Spektrometrie.....	14
4. Výsledky a diskuze.....	15
4.1. DCV a DPV voltametrie na UTGE	15
4.1.1. Stanovení optimálního pH	15
4.1.2. Opakovatelnost měření	19
4.1.3. Kalibrační závislosti	20
4.1.3.1. Kalibrační závislost při pH 2.....	20
4.1.3.2. Kalibrační závislost při pH 3.....	23
4.2. Voltametrické stanovení nitrofurantoinu v léčivu	27
4.3. Spektrofotometrické stanovení v léčivu	29
5. Závěr	31
6. Literatura.....	32

1. Teoretický úvod

1.1. Cíl práce

Cílem této bakalářské práce bylo nalezení optimálních podmínek pro elektrochemické stanovení nitrofurantoinu. Látka byla stanovovaná v BRP s využitím elektrody z ultračistého grafitu (UTGE). Jako techniky pro nalezení optimálních podmínek byly použity DC voltametrie (DCV) a diferenční pulzní voltametrie (DPV). Získané výsledky byly využity pro následné stanovení nitrofurantoinu v léčivu Furolin 100 mg/tableta. Jako srovnávací analytická metoda byla použita UV–VIS absorpční spektroskopie.

2. Teoretická část

2.1. Pracovní elektroda

Pro měření této bakalářské práce byla použita pracovní elektroda z ultračistého grafitu (UTGE). Elektroda je ve tvaru dutého válce, který je vyroben z polyetherketonu s vnitřním průměrem 2,0 mm, do kterého je vkládán ultračistý grafit, který je napuštěn epoxidovou pryskyřicí [1,2]. Povrch UTGE je stabilní, jednotný povrch, který je obnovitelný, protože lze oleštit např. aluminou [3].

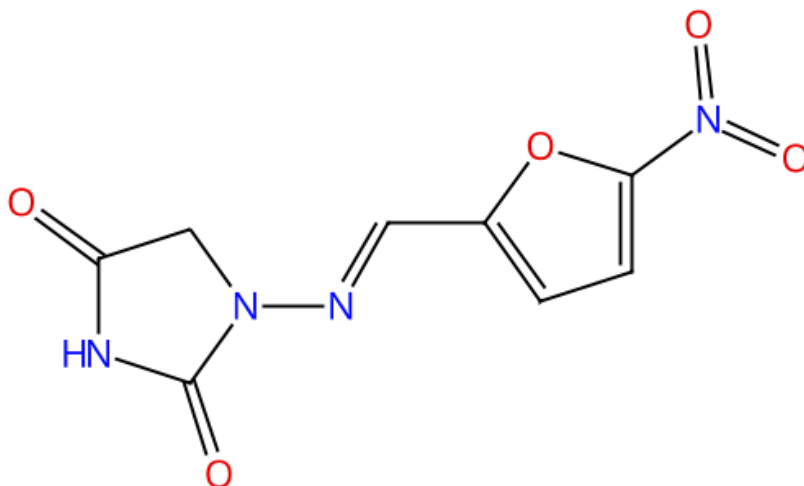


Obr. 2.1 Pracovní elektroda z ultračistého grafitu (UTGE) – převzato z Metrohm ČR

(https://www.metrohm.com/cs_cz/products/6/1204/61204180.html).

2.2. Nitrofurantoin

Nitrofurantoin (NFT), jehož systematický název je *N*-(5-nitro-2-furfuryliden)-1-aminohydantoin [4], má svůj strukturní vzorec vyobrazený na obr. 2.2. Tato látka je syntetická a patří do skupiny nitrofuranů [5]. NFT je antibakteriální sloučenina, která se historicky připravuje reakcí 1-aminohydantoinu sulfátu a 5-nitro-2-furaldehydu diacetátu [4].



Obr. 2.2 Strukturní vzorec nitrofurantoinu (NFT) – vzorec převzat z CAS SciFinder.

NFT je účinné antibakteriální léčivo, které se používá při zánětu dolních močových cest [6,11]. Toto léčivo se používá jak při počátečních, opakovaných, nebo také jako profylaxe u infekcí dolních močových cest způsobenými organismy citlivými na NTF [5,8]. Vykazuje účinnost proti mnoha gram–negativním a gram–pozitivním bakteriím [4], jako jsou například stafylokoky, mnoho kmenů *Escherichia coli*, streptokoky, enterobakterie, *Klebsiella pneumoniae* [4–6].

2.2.1. Mechanismus účinku nitrofurantoinu

Za antibakteriální účinek NFT jsou zodpovědné jeho metabolity, které vznikají intercelulárně redukcí nitroskupiny ($-\text{NO}_2$). Nitroskupina je napojena na heterocyklický furanový kruh a je přeměňována působením bakteriálních nitroreduktas na aminové deriváty [5–7]. Tyto vzniklé metabolity jsou toxické a nespecificky napadají ribozomální proteiny a DNA bakterie, způsobují inhibici syntézy proteinů, a tím dochází k usmrcení bakteriální buňky [6].

2.2.2. Biologická dostupnost

Velikost částic ovlivňuje biologickou dostupnost NFT. Velikost částic se dělí na dva druhy: makrokrytalická a mikrokrytalická. Z gastrointestinálního traktu je vstřebávána makrokrytalická forma NFT, která se vstřebává pomaleji a je vylučována močí. Mikrokrytalická forma NFT se vstřebává rychleji a projevuje se vyšším počtem nežádoucích účinků, zejména gastrointestinálních [8]. NFT je vstřebáván z trávicího traktu, nejvíce je vstřebáván v tenkém střevě. Užívání NFT je proto doporučeno s jídlem. Jídlo podporuje větší vstřebání látky, a tím dochází ke zvýšení jeho biologické dostupnosti [8–10].

2.2.3. Nežádoucí účinky

NFT a jeho užívání může být spojeno s výskytem nezávažných nežádoucích účinků, které se vyskytují často. Závažné nežádoucí účinky se vyskytují jen zřídka [12]. Nejčastějšími nezávažnými nežádoucími účinky jsou bolest hlavy, poruchy gastrointestinálního traktu, které se projeví jako ztráta chuti k jídlu, nauzea a zvracení. Aby se předcházelo těmto nezávažným nežádoucím účinkům, doporučuje se užívání léčiva společně s jídlem nebo popřípadě zapít mlékem [12,14,16]. Dalším méně častým nezávažným nežádoucím účinkem je vyrážka [14]. K závažným nežádoucím účinkům se řadí hepatotoxicita, neuropatie, poškození plic; tyto závažné nežádoucí účinky se objevují zejména při dlouhodobém užívání [11,13,15]. NFT je tímto pádem považovaný za poměrně bezpečné léčivo [12].

2.2.4. Analýza nitrofuránů

Nitrofurany jsou rychle metabolizovány a nejsou detekovány po několika hodinách od podání, ale jejich metabolity zůstávají po dobu několika měsíců jako zbytky vázané na tkáňové proteiny [16]. Analýza metabolitů nitrofuránů se uskutečňuje ve farmaceutických přípravcích, biologických tekutinách, tkáních či živočišných produktech. Analýzu je možné provádět pomocí kapalinové chromatografie s různými detekčními metodami, jako jsou např. UV a MS [16–18]. Dalšími metodami pro analýzu ve farmakologických přípravcích a lidské moči jsou např. HPLC a průtoková injekční analýza se spektrofotometrickou detekcí [19,20]. Elektrochemické chování NFT bylo zkoumáno např. pomocí visící galinstanové kapkové elektrody (HGDE) [21] či borem dopované diamantové elektrody [22].

3. Experimentální část

3.1. Reagencie

Zkoumaná látka byla nitrofurantoin (NFT) od firmy Sigma–Aldrich (Life Science). Zásobní roztok NFT o koncentraci $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l byl připraven rozpuštěním 24,0 mg. K tomuto množství bylo přidáno cca 60 ml ethanolu (absolutní, p.a., Ing. Petr Švec, Penta, Praha), 100,0 ml odměrná baňka byla dána do ultrazvukové lázně a látka byla ponechána 30 minut rozpouštět při laboratorní teplotě. Poté byl objem roztoku doplněn po rysku ethanolem na 100,0 ml. Zásobní roztok byl připravován každý den před měřením čerstvý z důvodu jeho dlouhodobé nestability, která byla pozorována pomocí UV–VIS spektrofotometrie.

Brittonův-Robinsonův pufr (BRP) byl připraven smícháním kyselé a zásadité složky. Kyselá složka byla připravena smícháním 2,47 g pevné kyseliny trihydrogen borité (p.a., Lach-Ner, Neratovice), 2,7 ml 85% kyseliny trihydrogenfosforečné (p.a., Lach-Ner, Neratovice) a 2,3 ml 99,8% octové kyseliny (ledová, p.a., Lach-Ner, Neratovice) a doplněním deionizovanou vodou (Millipore Milli-Q Plus, Millipore, Billerica, MA, USA) na objem 1,0 litru. Roztok kyselé složky byl připraven o koncentraci 0,04 mol/l. Zásaditá složka byla připravena rozpuštěním pevného 98% hydroxidu sodného o navážce 8,16 g (perličky, p.a., Ing. Petr Švec, Penta, Praha) v deionizované vodě a doplněním na objem 1,0 litru (výsledná koncentrace 0,2 mol/l).

Léčivo Furolin 100 mg na tabletu bylo rozpuštěno v ethanolu na teoretickou koncentraci $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l a bylo použito pro voltametrické a spektrometrické stanovení obsahu NFT v lékové formě.

3.2. Aparatura

Voltametrická stanovení byla prováděna pomocí přístroje Mini- and Microelectrode System UM μ E se softwarem Polar Pro 5.1. (Eco-Trend Plus, Praha) a operačním systémem Microsoft Windows XP Professional, verze 2002. Pro měření bylo použito tříelektrodové zapojení s nastavenou citlivostí I (v programu Polar Pro 5.1 nastaveno zvětšení citlivosti $100\times$ a použit proudový rozsah 100 μ A). Jako pracovní elektroda byla použita elektroda z ultračistého grafitu (UTGE, kat. č. 6.1204.180, Metrohm, Švýcarsko), jako referentní elektroda byla použita argentchloridová (typ 10-20+polaro, Ag 10-10-2014-3, 3mol/l KCl, Elektrochemické Detektory, Turnov) a jako pomocná byla použita platinová elektroda (typ 1+polaro, Pt 22-2-2013-3, Elektrochemické Detektory, Turnov).

Pro všechna měření technikou DCV byla rychlost nárůstu potenciálu 20 mV/s a potenciálový krokem 3 mV. Pro techniku DPV byly na pracovní elektrodu vkládány pulzy s rychlostí nárůstu potenciálu 20 mV/s, potenciálovým krokem 3 mV, výškou pulzu -50 mV, šířkou pulzu 100 ms

(proud vzorkován 20 ms před nástupem pulzu a posledních 20 ms na konci pulzu) a periodou pulzu 150 ms.

Spektrofotometrická měření byla prováděna na přístroji Agilent 8453 v programu UV–Visible ChemStation verze 9.01 (obojí Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA).

Pomocí digitálního pH-metru Janway 3510 (Jenway, Velká Británie) s kombinovanou skleněnou elektrodou byly připraveny vodné roztoky BRP o různém pH.

3.3. Pracovní postupy

3.3.1. Voltametrie

Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty. Vždy byl připraven roztok (základní elektrolyt), který byl připravován postupným přidáváním zásadité složky ke kyselé složce BRP o daném pH. Pro měření pH závislosti v roztocích o objemu 10 ml byly roztoky následně kvantitativně převedeny do měřící cely. Základní elektrolyt tvořilo 10 ml vodného roztoku BRP o daném pH: 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; 11,0; 12,0 a 13,0. Základní elektrolyt byl probubláván po dobu 5 minut dusíkem (čistota 4.0, z centrálního rozvodu v budově Chemického ústavu PřF UK), který byl přiváděn přes promývačku s deionizovanou vodou. Nejdříve byl proměřen základní elektrolyt, poté byl odebrán 1 ml a přidán 1 ml zásobního roztoku NFT o $c = 1 \cdot 10^{-3}$ mol/l, který byl též probublán 5 minut dusíkem. Po každém změřeném vzorku o určité hodnotě pH byla pracovní elektroda opláchnuta deionizovanou vodou, po dobu 1 minuty leštěna aluminou, opláchnuta vodou a takto byla připravena k dalšímu měření. Přesná hodnota pH vodných roztoků BRP byla měřena pomocí pH-metru a i pro 10% ethanolicke roztoky je díky nízkému vlivu organického modifikátoru používáno pH pro čistě vodná prostředí.

3.3.2. Kalibrační závislost

Následoval pokus, jakým byl zjištěný rozsah koncentrací v rámci lineární kalibrační závislosti, který poskytuje NFT při použití technik DCV a DPV na UTGE. Kalibrační závislost byla proměřována v BRP o pH 2. Analyzovány byly vzorky NFT o koncentracích v řádech 10^{-7} , 10^{-6} a 10^{-5} mol/l. Měření bylo provedeno pomocí přídavek NFT o $c = 1 \cdot 10^{-3}$ mol/l a $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l. Po každém přidavku byl roztok probubláván po dobu 20 sekund dusíkem pro odstranění rozpuštěného kyslíku. Měřené koncentrace byly připraveny pipetováním jednotlivých přídavek NFT o koncentraci $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l pro řád $(1-10) \cdot 10^{-7}$ mol/l a dále o koncentraci $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l pro řády $(1-10) \cdot 10^{-6}$ a $(1-10) \cdot 10^{-5}$ mol/l. Pro obě techniky bylo měřeno v rozsahu potenciálového okna +100 až -600 mV.

3.3.3. Stanovení v léčivu

Voltametrické stanovení množství NTF v léčivu bylo prováděno v tabletě Furolinu 100 mg/tableta. Tableta byla zvážena a rozetřena v třecí misce. Zásobní roztok, který byl před každým měřením připravován čerstvý, byl připraven kvantitativním převedením příslušného množství tablety do odměrné baňky, do které bylo přidáno cca 25 ml ethanolu a ponecháno 30 minut rozpouštět při laboratorní teplotě v ultrazvukové lázni, poté doplněno po rysku ethanolem (50ml odměrná baňka). Pro voltametrické měření byly připraveny 10ml vzorky vodného BRP o optimálním pH s příslušným množstvím zásobního roztoku léčiva a standardu NFT. Vzorky byly kvantitativně převedeny do měřicí cely, ve které byly po dobu 5 minut probublány dusíkem a následně analyzovány.

3.3.4. Spektrofotometrie

Jako srovnávací analytická metoda pro stanovení NFT v léčivu byla použita UV–VIS spektrofotometrie. Pro spektrofotometrické stanovení byly připraveny 10 ml odměrné baňky se vzorky, které obsahovaly příslušné množství standardu NFT a zásobního roztoku léčiva a doplněny po rysku ethanolem. Roztoky byly měřené oproti roztoku ethanolu v křemenné kyvetě o tloušťce 1,0 cm. Absorpce připravených roztoků byla měřena v rozmezí vlnových délek 220–550 nm v programu UV–Visible ChemStation 9.01.

4. Výsledky a diskuze

4.1. DCV a DPV voltametrie na UTGE elektrodě

4.1.1. Stanovení optimálního pH

Pomocí technik DCV a DPV bylo hledáno optimální pH pro stanovení NFT ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) a pro další následná měření. Byla použita UTGE ve vodném roztoku BRP při hodnotách pH: 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; 11,0; 12,0 a 13,0.

Zjištěná rozmezí potenciálových oken, při kterých měření probíhalo pomocí technik DCV a DPV, jsou uvedena v tabulce 4.1. Pro každé pH byl zvolen počátek potenciálového okna (E_{in}) +100 mV do konce v rozmezí (E_{fin}) -1500 až -1850 mV, aby byl pík analytu co nejlépe vyvinutý. Proudová hranice při hledání hodnoty E_{fin} byla přibližně 10 μ A.

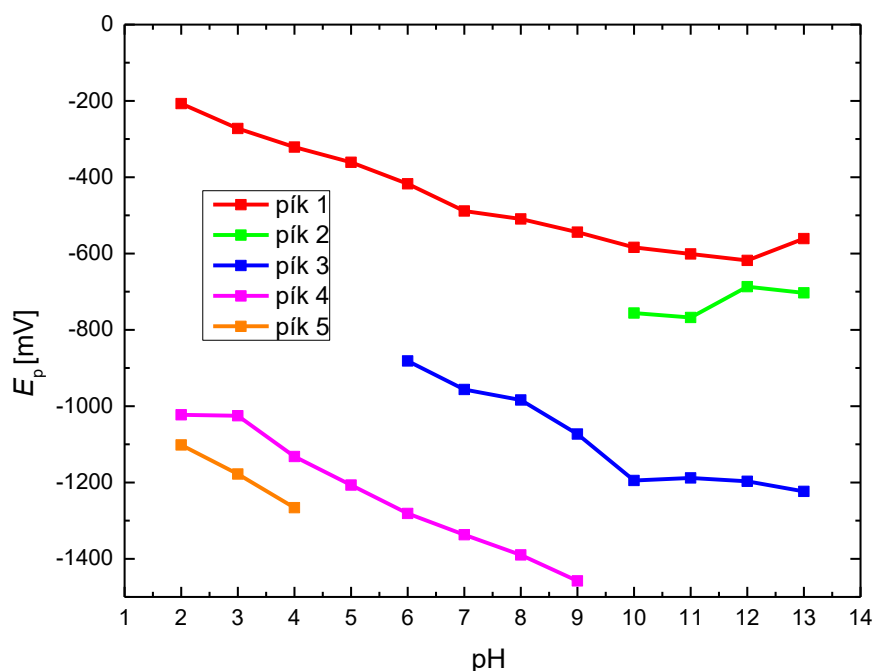
Tabulka 4.1.

Přehled rozmezí potenciálových oken pro techniky DCV a DPV na UTGE pro stanovení NFT ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) ohraničených počátečním (E_{in}) a koncovým potenciálem (E_{fin}) v rozmezí pH 2,0–13,0.

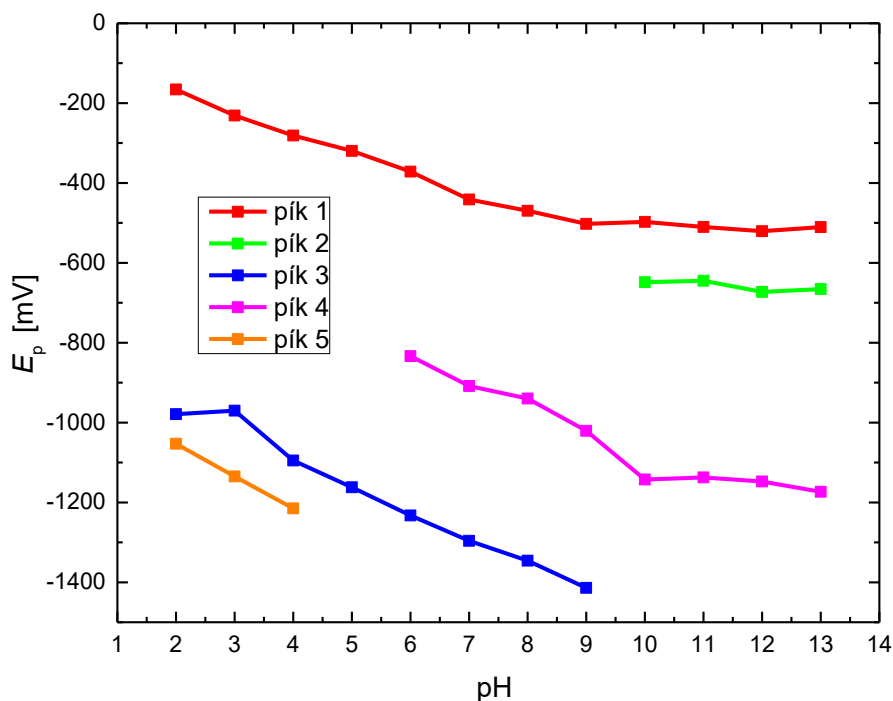
DCV			DPV		
pH	E_{in} [mV]	E_{fin} [mV]	pH	E_{in} [mV]	E_{fin} [mV]
2,0	100	-1500	2,0	100	-1500
3,0	100	-1500	3,0	100	-1500
4,0	100	-1500	4,0	100	-1500
5,0	100	-1450	5,0	100	-1450
6,0	100	-1500	6,0	100	-1500
7,0	100	-1500	7,0	100	-1500
8,0	100	-1600	8,0	100	-1550
9,0	100	-1700	9,0	100	-1700
10,0	100	-1750	10,0	100	-1750
11,0	100	-1750	11,0	100	-1750
12,0	100	-1800	12,0	100	-1800
13,0	100	-1850	13,0	100	-1850

Na obr. 4.1 jsou pro techniku DCV a na obr. 4.2 pro techniku DPV znázorněny potenciály píků NFT, které se vyskytují při různém pH. NFT poskytuje jeden dobře vyvinutý pík (odpovídající redukci nitroskupiny na odpovídající hydroxylamin [21,22]) a až dva další, které

nejsou již tak dobře vyvinuté, proto tyto píky a i jejich původy nebyly dále zkoumány. Tyto píky se posouvají k negativnějším potenciálům se vzrůstající hodnotou pH a mění svoji velikost.



Obr. 4.1 Závislost potenciálu píků NTF ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) na pH zaznamenaná pomocí DCV na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1). Červená křivka znázorňuje první pík, který byl dále zkoumán.



Obr. 4.2 Závislost potenciálu píků NTF ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) zaznamenaná pomocí DPV na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1). Červená křivka znázorňuje první pík, který byl dále zkoumán.

Hodnoty získaných potenciálů píku (E_p) a proudů píku (I_p) NFT jsou pro techniku DCV uvedeny v tabulce 4.2 a pro techniku DPV v tabulce 4.3. Odpovídající voltamogramy jsou pro jejich lepší přehlednost rozděleny na sudé a liché hodnoty pH BRP, pro techniku DCV jsou ukázány na obr. 4.3 a pro techniku DPV na obr. 4.4. Nejvyšší a nejlépe vyvinuté voltametrické píky NTF byly získány v prostředích BRP–ethanol (9:1) o pH 2,0 a 3,0 pro obě použité techniky, proto byla v následujícím výzkumu věnována pozornost právě těmto dvěma prostředím.

Tabulka 4.2

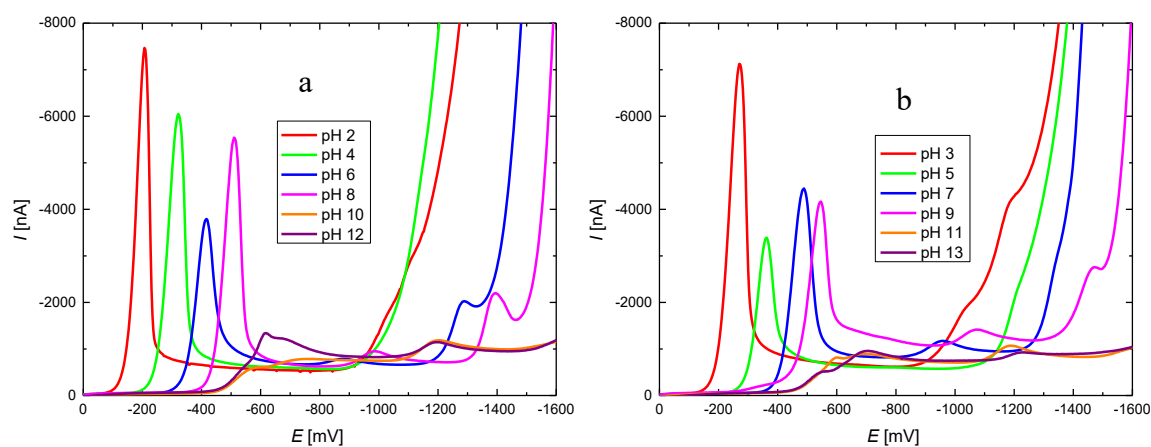
Vliv pH na potenciály píku (E_p) a proudy píku (I_p) NTF ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) zkoumaný technikou DCV na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) v rozmezí pH 2,0–13,0.

pH	E_p [mV]	I_p [nA]
2,0	-207	-7297
3,0	-274	-7000
4,0	-320	-5922
5,0	-362	-3003
6,0	-417	-3716
7,0	-490	-4358
8,0	-509	-5422
9,0	-545	-4041
10,0	-583	-513
11,0	-599	-732
12,0	-619	-1246
13,0	-559	-437

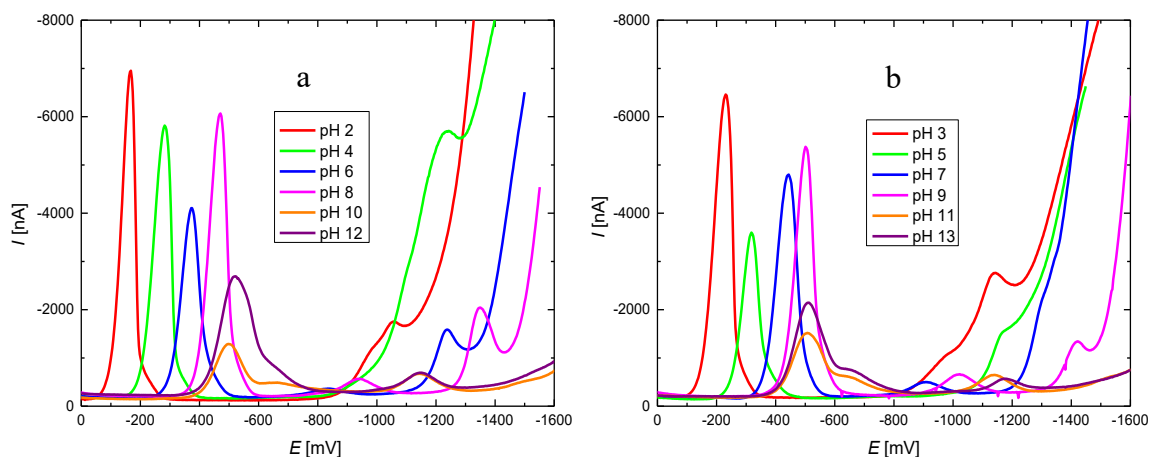
Tabulka 4.3

Vliv pH na potenciály píku (E_p) a proudy píku (I_p) NFT ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) zkoumaný technikou DPV na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) v rozmezí pH 2,0–13,0.

pH	E_p [mV]	I_p [nA]
2,0	-232	-6591
3,0	-282	-6164
4,0	-282	-5537
5,0	-371	-3423
6,0	-371	-3913
7,0	-442	-4586
8,0	-471	-5828
9,0	-502	-5116
10,0	-497	-1093
11,0	-511	-1288
12,0	-519	-2425
13,0	-511	-1913



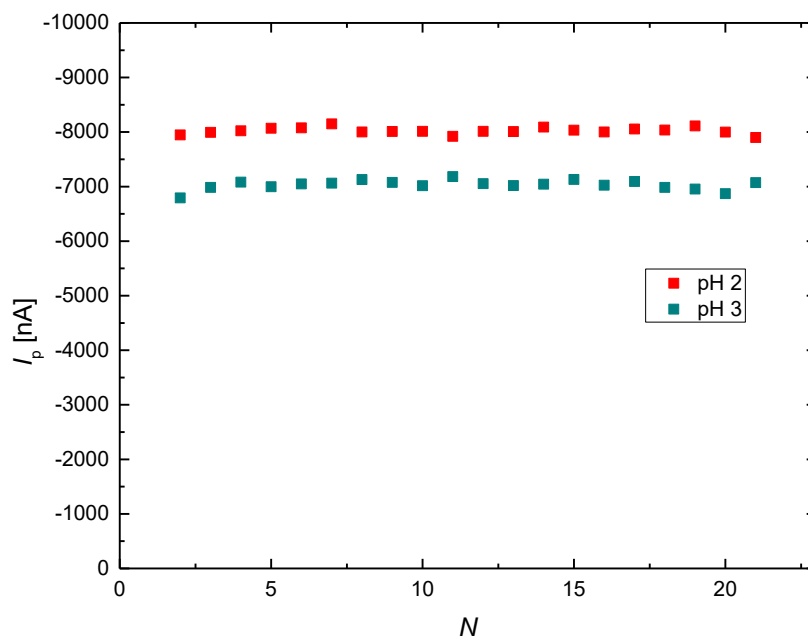
Obr. 4.3 DC voltamogramy NFT ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) zaznamenané na UTGE ve prostředích BRP–ethanol (9:1) o různých hodnotách pH: (a) sudé hodnoty pH, (b) liché hodnoty pH.



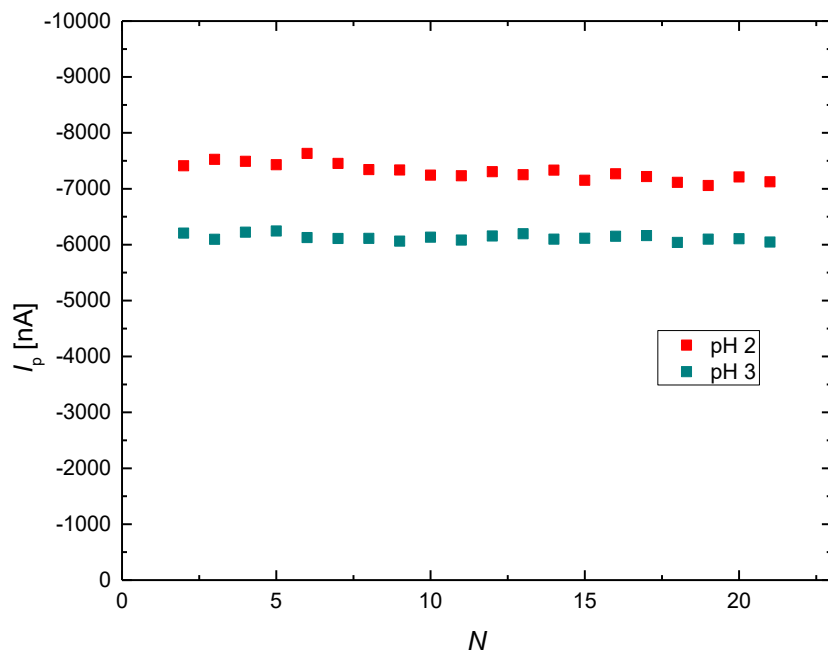
Obr. 4.4 DP voltamogramy NFT ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) zaznamenané na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o různých hodnotách pH: (a) sudé hodnoty pH, (b) liché hodnoty pH.

4.1.2. Opakovatelnost měření

V rámci optimalizace podmínek pro stanovení NTF byla zjišťována opakovatelnost měření u obou voltametrických technik. Opakovatelnost stanovení NTF o $c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l byla měřena v prostředí v BRP–ethanol (9:1) při pH 2,0 a 3,0 z důvodu přítomnosti dobře vyvinutého zkoumaného DCV a DPV píku. Pro obě techniky byla provedena série 21 opakujících se stanovení. První měření není vyobrazené na obr. 4.5 a ani 4.6 z důvodu jeho odlehlosti. Před každou měřenou sérií byla elektroda oleštěna aluminou po dobu 1 minuty a roztok v měřící cele byl probublán 5 minut dusíkem. Měření opakovatelnosti bylo prováděno v potenciálovém okně +100 až –1400 mV pro pH 2,0 a pro pH 3,0 v potenciálovém okně +100 až –1500 mV.



Obr. 4.5 Závislost výšky píku (I_p) zaznamenaná v průběhu 20 po sobě jdoucích stanoveních NFT ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) pomocí DCV na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 2 a 3; N – pořadové číslo stanovení.



Obr. 4.6 Závislost výšky píku (I_p) zaznamenaná v průběhu 20 po sobě jdoucích stanoveních NFT ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l) pomocí DPV na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 2 a 3; N – pořadové číslo stanovení.

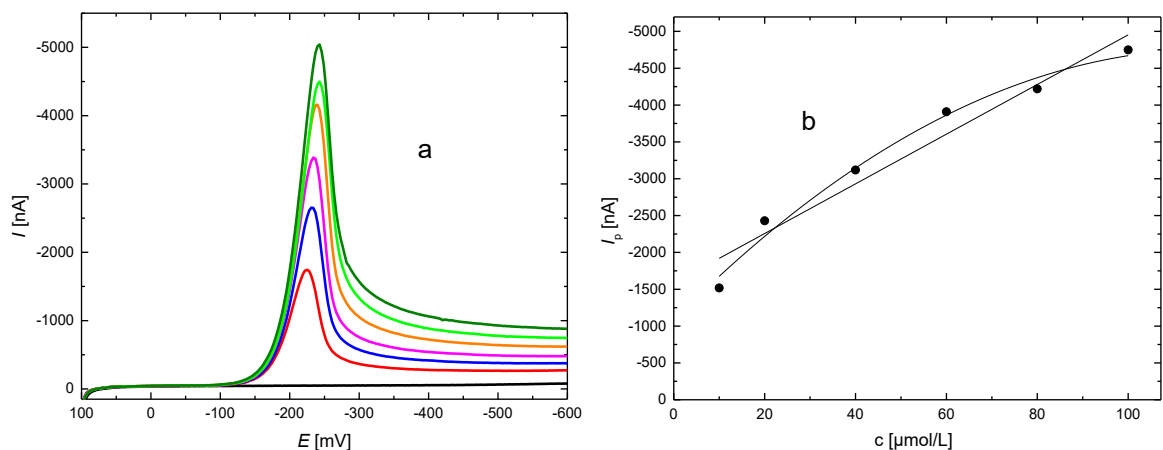
Jak je patrné z uvedených obr. 4.5 a 4.6, nedochází při opakovaných stanoveních NTF k významnému poklesu výšek píků a hodnoty opakovatelnosti jsou akceptovatelně nízké: 0,73 % (pH 2,0) a 1,23 % (pH 3,0) pro DCV a 1,99 % (pH 2,0) a 0,89 % (pH 3,0) pro DPV na UTGE. Proto při následné konstrukci kalibračních závislostí NTF nebyla použita žádná další zvláštní obnova povrchu pracovní elektrody.

4.1.3. Kalibrační závislosti

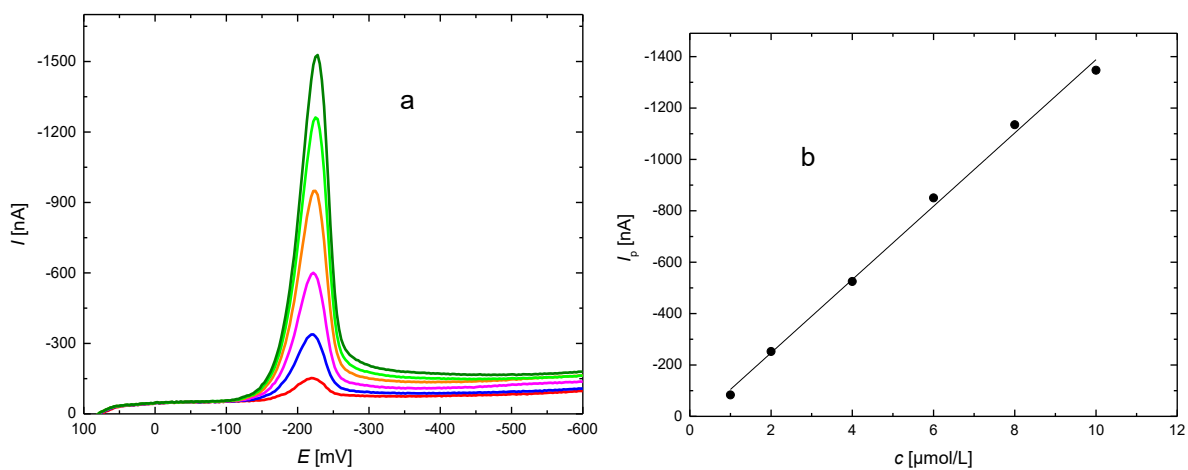
Technikami DCV a DPV byla sledována kalibrační závislost NTF o koncentracích 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 20,0; 40,0; 60,0; 80,0 a 100,0 $\mu\text{mol/l}$. Pro kalibrační závislost v koncentračním řádu 10^{-7} mol/l byly pipetovány jednotlivé odpovídající přídatky NFT o $c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol/l, pro koncentrační řády 10^{-6} až 10^{-5} mol/l pak odpovídající přídatky NFT o $c = 1 \cdot 10^{-3}$ mol/l.

4.1.3.1. Kalibrační závislosti při pH 2

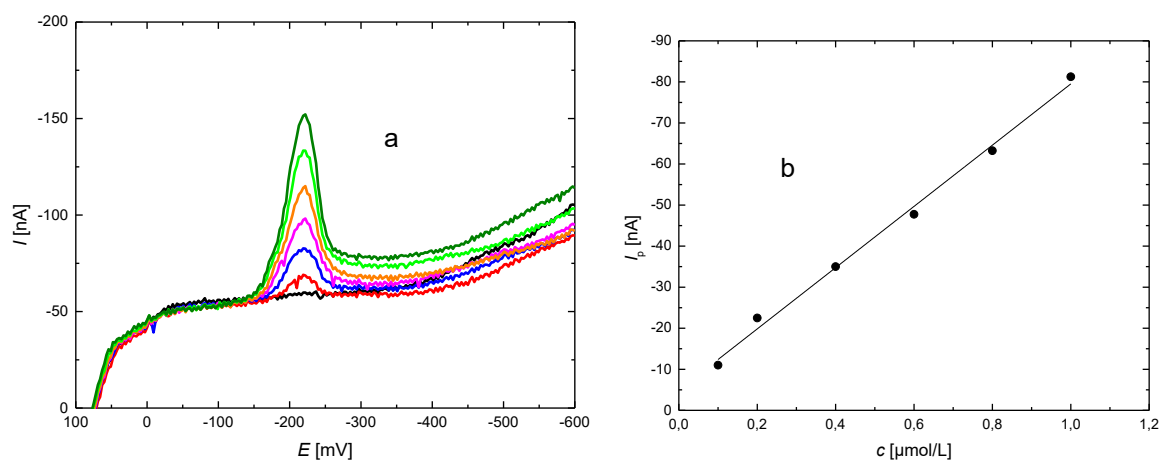
Měření bylo prováděno v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 2,0. Z naměřených dat byly strojeny voltamogramy a kalibrační závislosti, které jsou vyobrazeny na obr. 4.7–4.12. Ze sestrojených kalibračních grafů a z jejich rovnic byly vypočítané meze detekce (LOD) podle vztahu $3\sigma/k$ a meze stanovitelnosti (LOQ) podle vztahu $10\sigma/k$, které jsou uvedeny spolu s dalšími parametry v tabulce 4.4 pro metodu DCV a pro metodu DPV v tabulce 4.5.



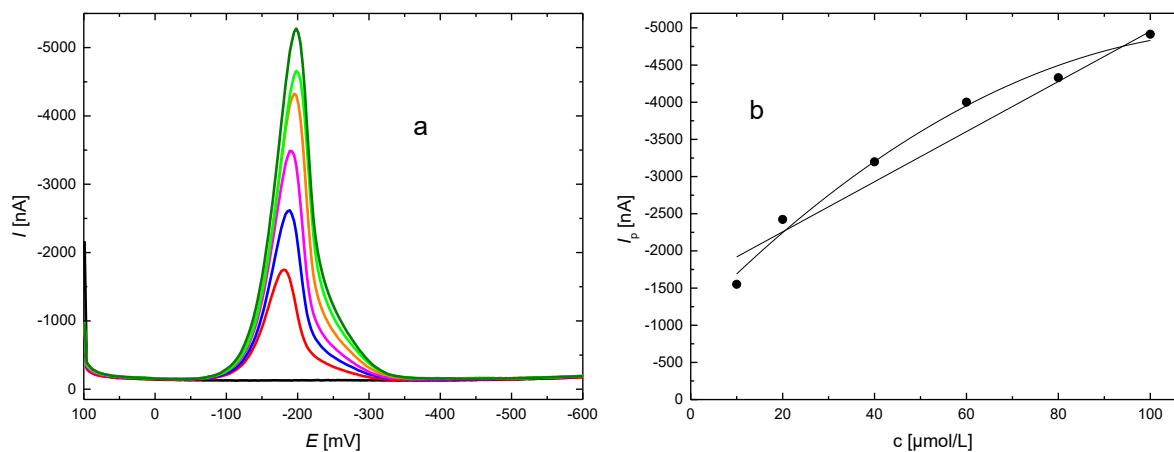
Obr. 4.7 (a) DC voltamogramy NFT ($c = 10\text{--}100 \mu\text{mol/l}$) zaznamenané na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 2. Černá křivka značí základní elektrolyt. (b) Odpovídající kalibrační závislost.



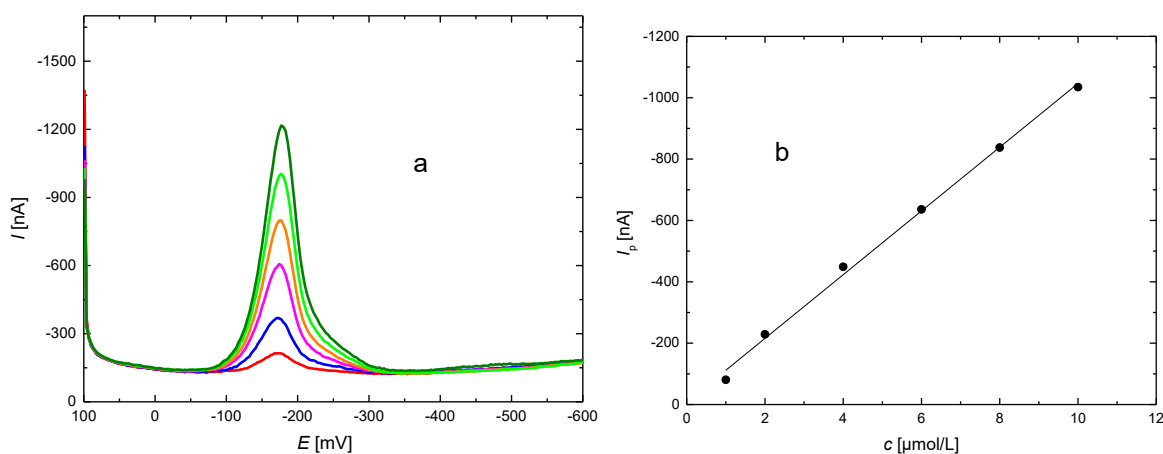
Obr. 4.8 (a) DC voltamogramy NFT ($c = 1\text{--}10 \mu\text{mol/l}$) zaznamenané na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 2. (b) Odpovídající kalibrační závislost.



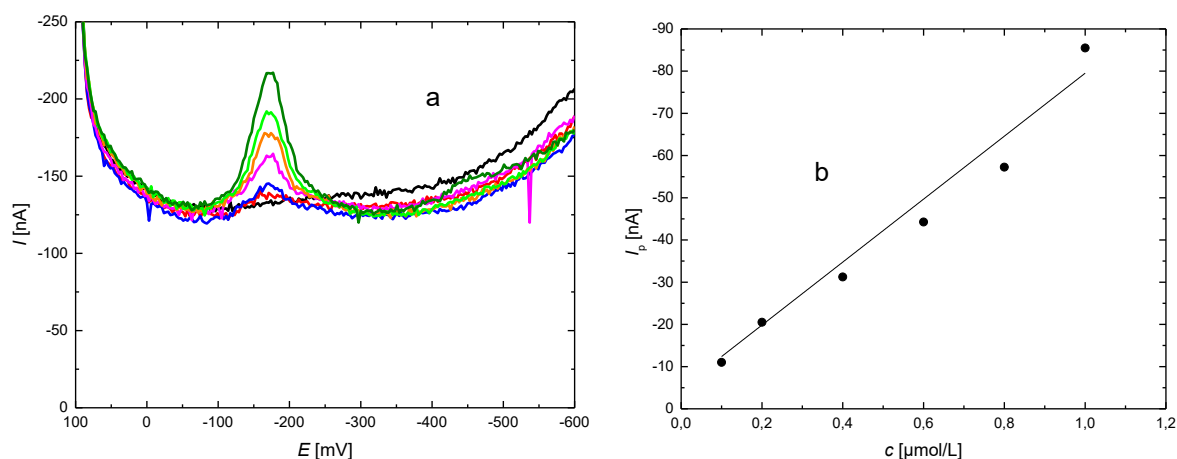
Obr. 4.9 (a) DC voltamogramy NFT ($c = 0,1\text{--}1 \mu\text{mol/l}$) zaznamenané na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 2. Černá barva značí základní elektrolyt. (b) Odpovídající kalibrační závislost.



Obr. 4.10 (a) DP voltamogramy NFT ($c = 10\text{--}100 \mu\text{mol/l}$) zaznamenané na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 2. Černá barva značí základní elektrolyt. (b) Odpovídající kalibrační závislost.



Obr. 4.11 (a) DP voltamogramy NFT ($c = 1\text{--}10 \mu\text{mol/l}$) zaznamenané na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 2. (b) Odpovídající kalibrační závislost.



Obr. 4.12 (a) DP voltamogramy NFT ($c = 0,1\text{--}1 \mu\text{mol/l}$) zaznamenané na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 2. Černá barva značí základní elektrolyt. (b) Odpovídající kalibrační závislost.

Z takto získaných a sestrojených kalibračních přímek je patrné, že nejlepší lineární kalibrační závislost je v koncentračním rozsahu 1–10 $\mu\text{mol/l}$. Mez detekce a mez stanovitelnosti byla počítána u stanovované látky u DCV z koncentrace $2 \cdot 10^{-7}$ mol/l z důvodu lepší opakovatelnosti u DPV byla mez stanovitelnosti a mez detekce počítána z koncentrace odpovídající nejnižší bodu příslušné kalibrační přímky. Pro výpočet *LOD* a *LOQ* byly vždy použity výsledky z 5 opakovaných stanovení ($n = 5$). U koncentrací v řádu 10^{-5} mol/l (obr. 4.7 (b) a 4.10 (b)) je vidět, že závislost není úplně vhodné prokládat lineární závislostí, proto se kalibrační závislost proložila i polynomičnou funkcí druhého stupně, která této závislosti odpovídá lépe (rovnice závislostí nejsou uvedeny).

Tabulka 4.4

Parametry kalibračních přímek NFT pro techniku DCV na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 2.

c [$\mu\text{mol/l}$]	Směrnice [mA·l/mol]	Úsek [nA]	r^2	<i>LOQ</i> [$\mu\text{mol/l}$]	<i>LOD</i> [$\mu\text{mol/l}$]
10 – 100	–33,7	-1580 ± 240	0,9375	–	–
1 – 10	–143	38 ± 26	0,9959	–	–
0,1 – 1	–74,6	$-4,9 \pm 1,6$	0,9935	0,11	0,034

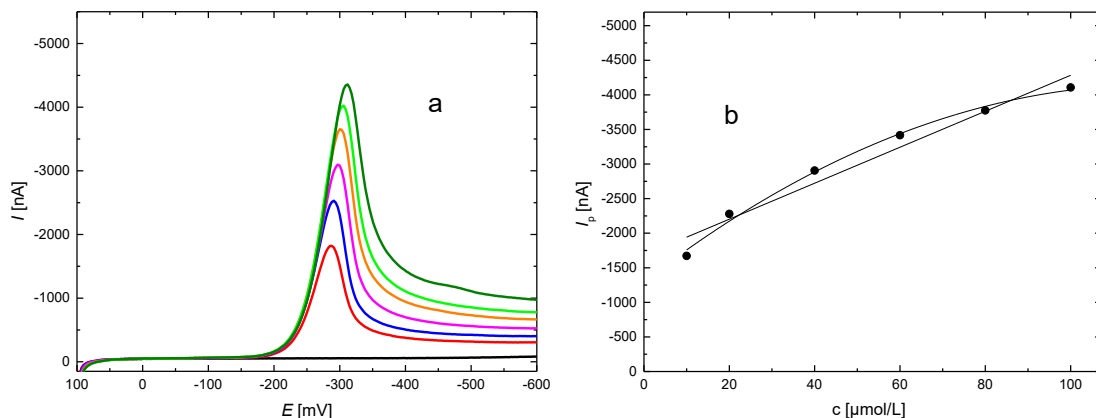
Tabulka 4.5

Parametry kalibračních přímek NFT pro techniku DPV na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 2.

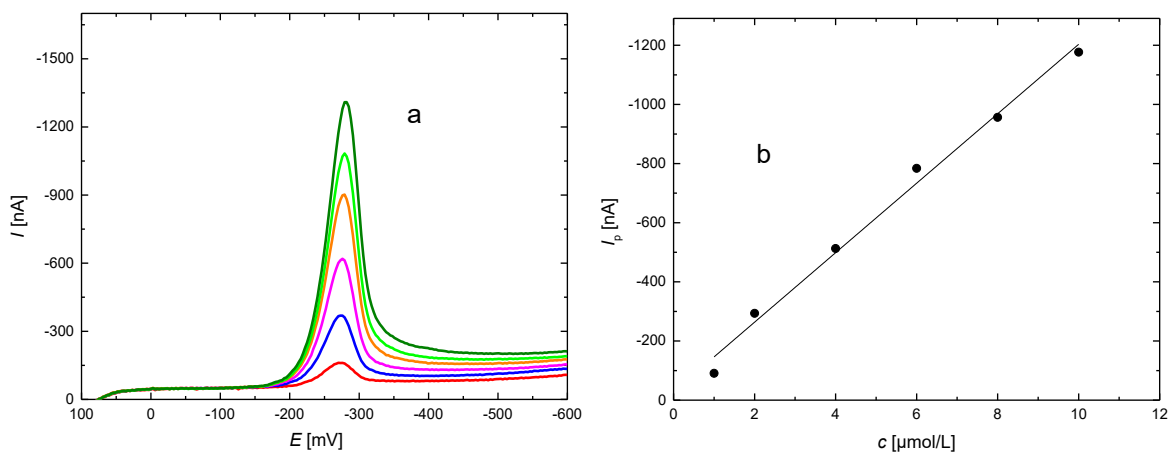
c [$\mu\text{mol/l}$]	Směrnice [mA·l/mol]	Úsek [nA]	r^2	<i>LOQ</i> [$\mu\text{mol/l}$]	<i>LOD</i> [$\mu\text{mol/l}$]
10 – 100	–34	-1580 ± 230	0,9367	–	–
1 – 10	–104	-8 ± 17	0,9963	–	–
0,1 – 1	–75,6	$-4,9 \pm 1,6$	0,9636	0,10	0,031

4.1.3.2. Kalibrační závislosti při pH 3

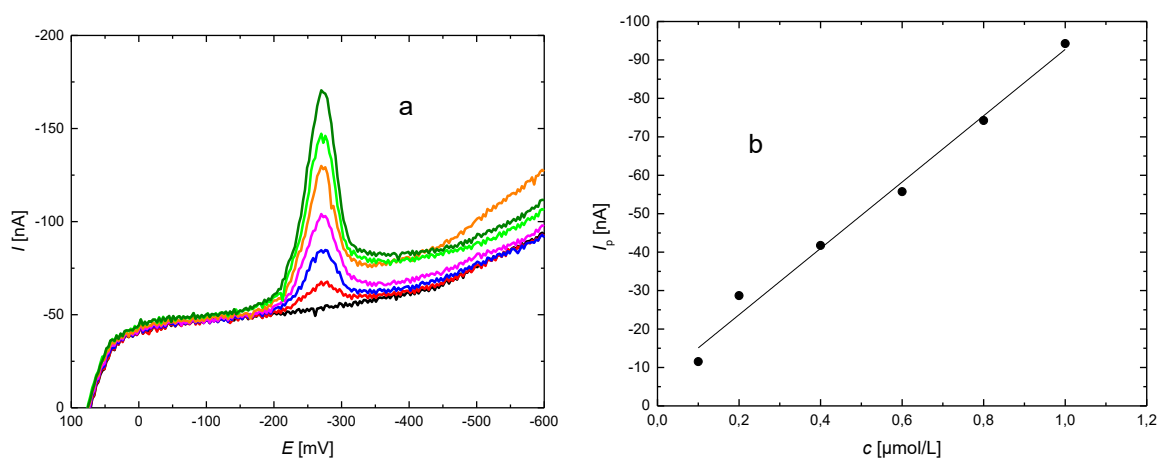
Kalibrační závislosti NTF byly vyšetřovány pro stejný koncentrační rozsah i za stejných podmínek jako pro pH 2 (kap. 4.1.3.1) s výjimkou pH, které nyní mělo hodnotu 3. Z takto naměřených dat byly strojeny voltamogramy a kalibrační závislosti, které jsou vyobrazeny na obr. 4.13–4.18. Ze sestrojených kalibračních grafů a z jejich rovnic byly vypočítané hodnoty *LOD* a *LOQ*, které jsou uvedeny spolu s dalšími parametry v tabulkách 4.6 (pro DCV) a 4.7 (pro DPV).



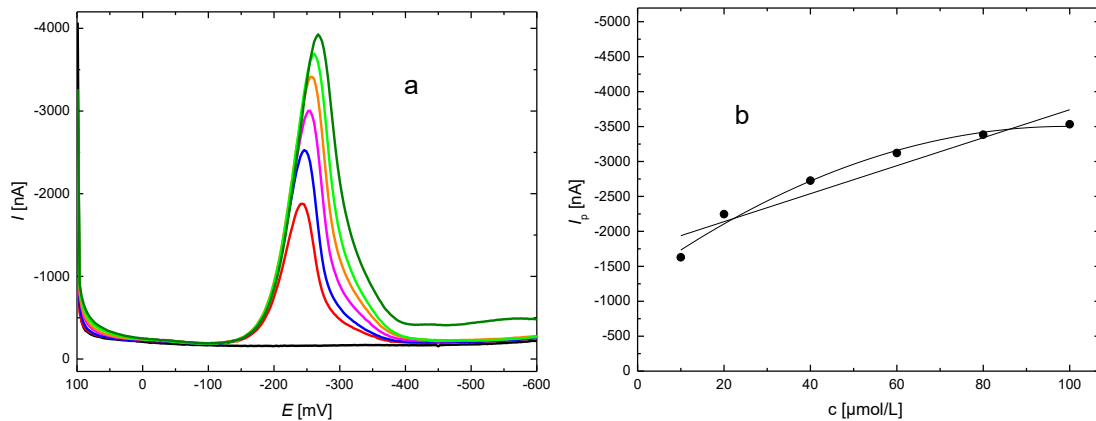
Obr. 4.13 (a) DC voltamogramy NFT ($c = 10\text{--}100 \mu\text{mol/l}$) zaznamenané na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 3. Černá barva značí základní elektrolyt. (b) Odpovídající kalibrační závislost.



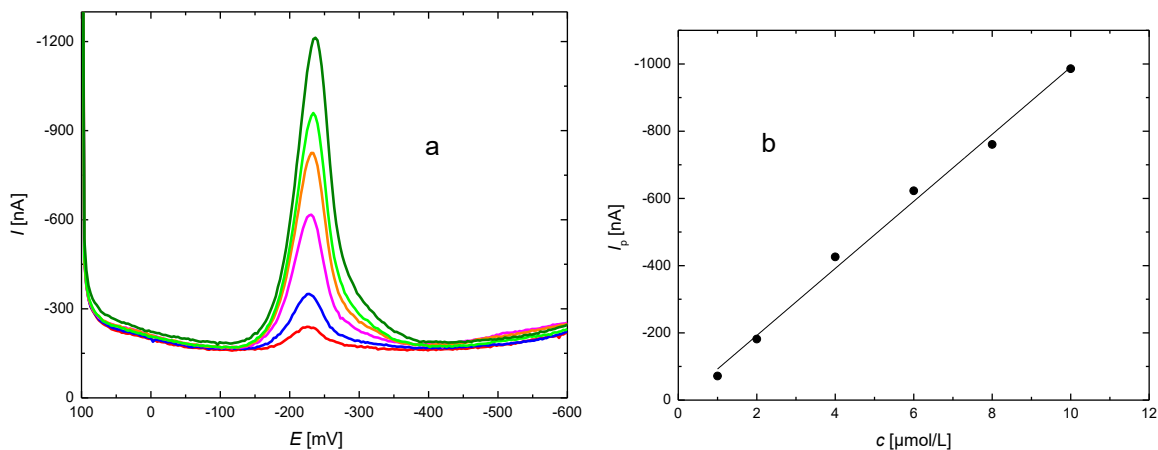
Obr. 4.14 (a) DC voltamogramy NFT ($c = 1\text{--}10 \mu\text{mol/l}$) zaznamenané na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 3. (b) Odpovídající kalibrační závislost.



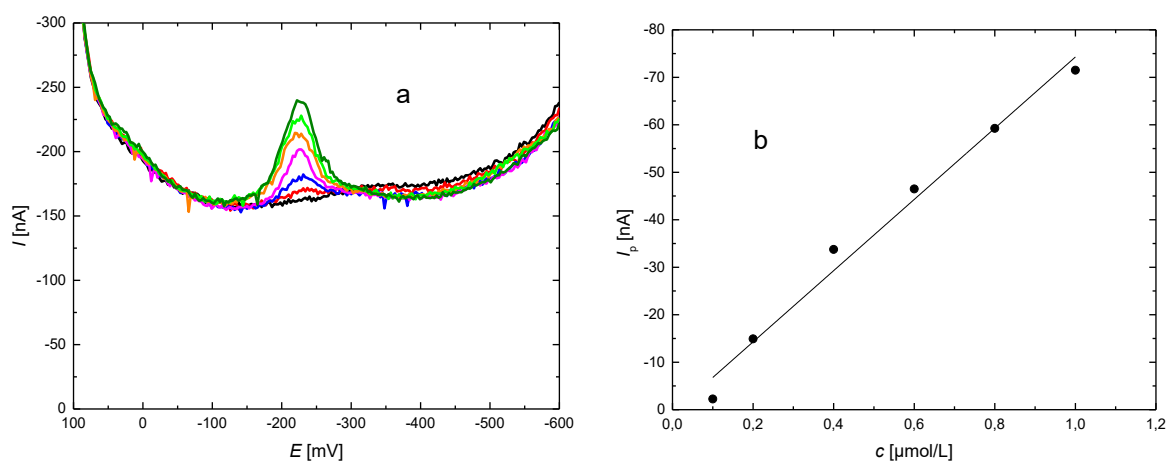
Obr. 4.15 (a) DC voltamogramy NFT ($c = 0,1\text{--}1 \mu\text{mol/l}$) zaznamenané na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 3. Černá barva značí základní elektrolyt. (b) Odpovídající kalibrační závislost.



Obr. 4.16 (a) DP voltamogramy NFT ($c = 10\text{--}100 \mu\text{mol/l}$) zaznamenané na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 3. Černá barva značí základní elektrolyt. (b) Odpovídající kalibrační závislost.



Obr. 4.17 (a) DP voltamogramy NFT ($c = 1\text{--}10 \mu\text{mol/l}$) zaznamenané na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 3. (b) Odpovídající kalibrační závislost.



Obr. 4.18 (a) DP voltamogramy NFT ($c = 0,1\text{--}1 \mu\text{mol/l}$) zaznamenané na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 3. Černá barva značí základní elektrolyt. (b) Odpovídající kalibrační závislost.

Z takto získaných a sestrojených kalibračních křivek je opět patrné, že nejlepší lineární kalibrační závislost je v koncentračním rozsahu 1–10 $\mu\text{mol/l}$. Takto nejlepší kalibrační závislost byla i pro pH 2,0. V tabulkách 4.6 a 4.7 jsou uvedeny parametry jednotlivých kalibračních přímk pro obě dvě metody. Mez detekce a mez stanovitelnosti byla u stanovované látky pro DCV počítaná z koncentrace odpovídající nejnižšímu bodu příslušné kalibrační přímky, u DPV z koncentrace $2 \cdot 10^{-7}$ mol/l z důvodu lepší opakovatelnosti stanovení ($n = 5$). U koncentrací v řádu 10^{-5} mol/l (obr. 4.13 (b) a 4.16 (b)) je vidět, že závislost není úplně vhodné prokládat lineární závislostí, proto se kalibrační závislost proložila i polynomicou funkcí druhého stupně, která této závislosti odpovídá lépe (rovnice závislostí nejsou uvedeny). Takto tomu bylo i u pH 2,0, lze tedy pozorovat, že trend kalibrační závislosti pro pH 2,0 a 3,0 se opakuje.

Tabulka 4.6

Parametry kalibračních přímk NFT pro techniku DCV na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 3.

c [$\mu\text{mol/l}$]	Směrnice [mA·l/mol]	Úsek [nA]	r^2	LOQ [$\mu\text{mol/l}$]	LOD [$\mu\text{mol/l}$]
10 – 100	–26,0	-1300 ± 110	0,9805	–	–
1 – 10	–117	-29 ± 35	0,9888	–	–
0,1 – 1	–86,2	-7 ± 13	0,9869	0,11	0,034

Tabulka 4.7

Parametry kalibračních přímk NFT pro techniku DPV na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 3.

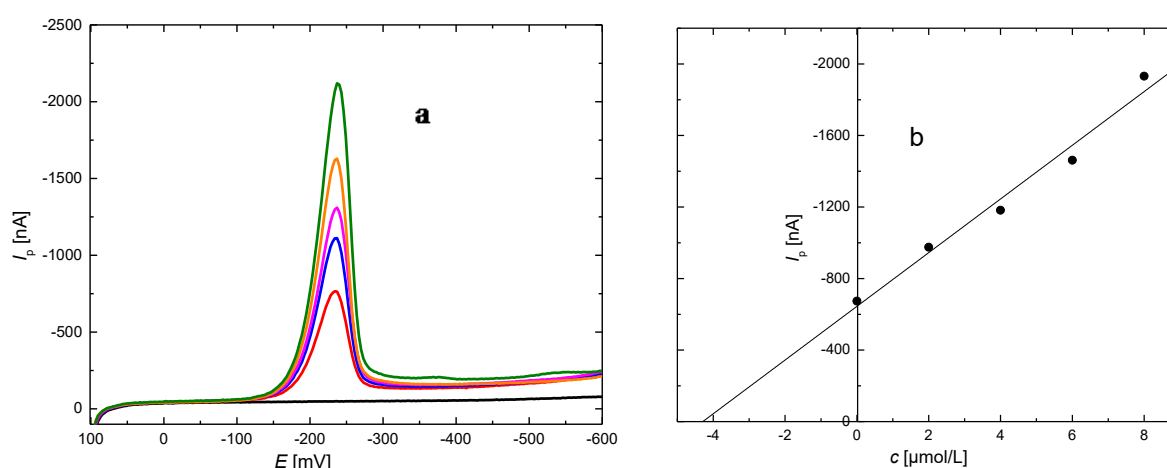
c [$\mu\text{mol/l}$]	Směrnice [mA·l/mol]	Úsek [nA]	r^2	LOQ [$\mu\text{mol/l}$]	LOD [$\mu\text{mol/l}$]
10 – 100	–20,0	-1320 ± 130	0,9787	–	–
1 – 10	–99,8	7 ± 24	0,9925	–	–
0,1 – 1	–75,9	$-0,7 \pm 2,9$	0,9807	0,13	0,039

4.2. Voltametrické stanovení nitrofurantoinu v léčivu

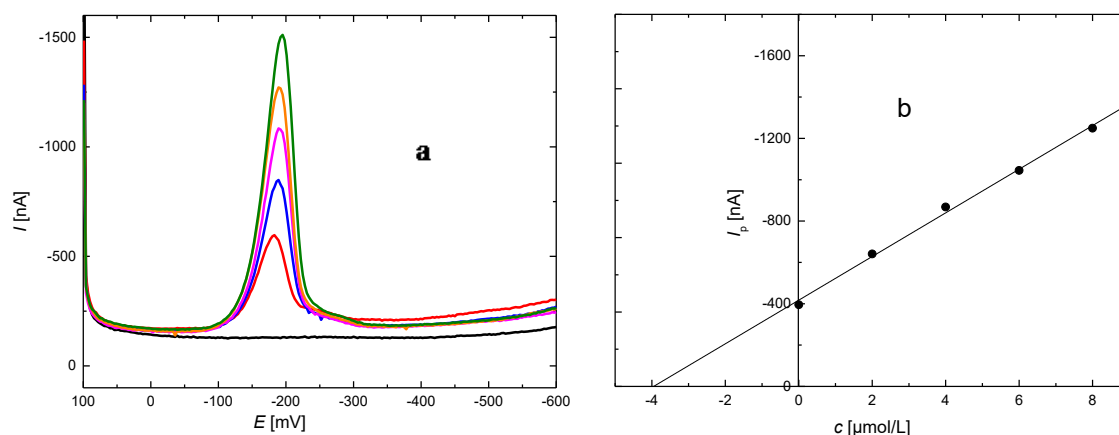
Voltametrické stanovení množství NTF v léčivu bylo prováděno pomocí přidavku standardu za dříve získaných optimálních podmínek v tabletě Furolin 100 mg/tabletu. Zásobní roztoky vzorku léčiva byly připraveny o koncentraci $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l (koncentrace teoreticky vycházející z množství léčiva deklarovaného výrobcem). Tableta Furolinu 100 mg/tableta byla zvážena a rozetřena v třecí misce ($m_{\text{Furolin 100 mg/tableta}} = 0,4021$ g), roztok byl připraven kvantitativním převedením 48,3 mg do 50ml odměrné baňky, přidáno bylo cca 30 ml ethanolu, baňka byla ponechána 30 minut na ultrazvukové lázni a poté byla doplněna po rysku ethanollem.

Pro měření metodami DCV a DPV byly připraveny 10ml roztoky BRP–ethanol (9:1) o pH 2,0 (toto prostředí bylo na základě dříve získaných výsledků upřednostněno vůči prostředí o pH 3,0), které obsahovaly 40 μ l zásobního roztoku léčiva. První odměrná baňka neobsahovala žádný přídavek zásobního roztoku standardu. Další odměrná baňka obsahovala 40 μ l zásobního roztoku léčiva a přídavek 20 μ l zásobního roztoku standardu ($c = 1 \cdot 10^{-3}$ mol/l); objem zásobního roztoku standardu se v následující baňce vždy zvýšil o 20 μ l. Vzorky kvantitativně převedeny do měřicí cely byly před analýzou probublány 5 minut dusíkem.

Stanovení NTF metodami DCV a DPV bylo prováděno v koncentračním rozsahu $4 \cdot 10^{-6}$ až $1,2 \cdot 10^{-5}$ mol/l. Měření probíhalo v potenciálovém okně +100 až -600 mV. Na obr. 4.19 (a) a 4.20 (a) jsou zobrazeny voltamogramy NTF získané při analýzách v léčivu Furolin. Na obr. 4.19 (b) a 4.20 (b) jsou znázorněny odpovídající koncentrační závislosti (parametry uvedeny v tabulce 4.9). Tabulka 4.10 uvádí získané výsledky stanovení obsahu NTF ve zkoumaném léčivu.



Obr. 4.19 (a) DC voltamogramy NTF zaznamenané na UTGE ve vzorcích tvořených léčivem Furolin a přidaným standardem NTF. Měřeno v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 2. Černá barva značí základní elektrolyt. (b) Odpovídající závislost výšky píku (I_p) na koncentraci přidaného standardu NTF k léčivu Furolin.



Obr. 4.20 (a) DP voltamogramy NTF zaznamenané na UTGE ve vzorcích tvořených léčivem Furolin a přidaným standardem NTF. Měřeno v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 2. Černá barva značí základní elektrolyt. (b) Odpovídající závislost výšky píku (I_p) na koncentraci přidaného standardu NTF k léčivu Furolin.

Tabulka 4.9

Parametry koncentračních závislostí přidaného standardu NTF k léčivu Furolin 100 mg/tableta získané na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 2.

Metoda	Léčivo	c standard NTF [$\mu\text{mol/l}$]	Směrnice [$\text{mA}\cdot\text{l/mol}$]	Úsek [nA]	r^2
DCV	Furolin 100 mg/tableta	0 – 8	-150	-644 ± 64	0,9781
DPV	Furolin 100 mg/tableta	0 – 8	-106	-417 ± 18	0,9951

Tabulka 4.10

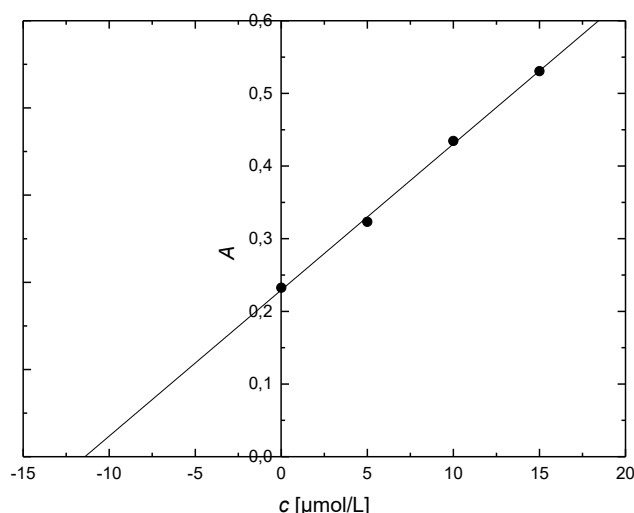
Stanovená množství NTF v léčivu. Měřeno metodami DCV a DPV na UTGE v prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 2.

Metoda	c standard NTF [$\mu\text{mol/l}$]	m deklarované [mg]	m vypočítané [mg]	Výtěžnost [%]
DCV	0 – 8	100	107	107
DPV	0 – 8	100	99	99

4.3. Spektrometrické stanovení nitrofurantoinu v léčivu

Srovnávací analytickou metodou k voltametričkému stanovení NTF v léčivu pomocí metody standardu přídatku byla UV–VIS absorpční spektrometrie.

Zásobní roztoky pro spektrofotometrická měření byly připraveny do 10ml odměrných baněk, které obsahovaly 100 μl zásobního roztoku léčiva, a to bez přídatku a s přídatkem 50 μl zásobního roztoku standardu ($c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$); objem zásobního roztoku byl vždy zvýšen o 50 μl . Roztoky byly proměřeny v rozsahu vlnových délek 200–550 nm v křemenné kyvetě o tloušťce 1,0 cm na přístroji Agilent 8453 (Agilent Technologies, USA). Měření probíhalo oproti roztoku ethanolu. Na obr. 4.21 je znázorněna kalibrační závislost absorbance na koncentraci přidaného standardu NTF (parametry uvedeny v tabulce 4.11). Tabulka 4.12 uvádí získané výsledky stanovení obsahu NTF ve zkoumaném léčivu.



Obr. 4.21 UV–VIS Spektrofotometrické stanovení Furolinu metodou standardního přídatku. Závislost absorbance (A) na koncentraci přidaného standardu NTF (0–15 $\mu\text{mol/l}$) k roztoku léčiva Furolin 100 mg/tableta. Vše probíhalo v prostředí ethanolu v 1cm křemenné kyvetě.

Tabulka 4.11

Parametry koncentrační závislosti přidaného standardu NTF k léčivu Furolin 100 mg/tableta získané v prostředí ethanolu pomocí UV–VIS spektrometrie v křemenné kyvetě o tloušťce 1,0 cm v rozsahu vlnových délek 200–500 nm.

Léčivo	c standard NTF [$\mu\text{mol/l}$]	Směrnice [AU·l/mol]	Úsek [AU]	r^2
Furolin 100 mg/tableta	0 – 15	0,0201	0,229 \pm 0,005	0,9979

Tabulka 4.12

Stanovená množství NTF v léčivu. Měřeno metodou UV–VIS absorpční spektrometrie v prostředí ethanolu v 1 cm křemenné kyvetě.

Metoda	c standard NTF [$\mu\text{mol/l}$]	m deklarované [mg]	m vypočítané [mg]	Výtěžnost [%]
UV–VIS	0 – 15	100	114	114

5. Závěr

V této bakalářské práci bylo zkoumáno využití pracovní elektrody z ultračistého grafitu (UTGE) pro stanovení léčiva nitrofurantoinu (NTF) pomocí DC voltametrie (DCV) a diferenční pulzní voltametrie (DPV).

Byly sledované proudové odezvy NTF při použití Brittonova-Robinsonova pufru (BRP) v rozmezí pH 2,0–13,0. Jako optimální prostředí pro stanovení NTF na UTGE bylo nalezeno prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 2,0 pro obě techniky, při tomto pH poskytoval analyt jeden dobře vyvinutý pík s nejvyšší výškou. Alternativně je možné použít i prostředí BRP–ethanol (9:1) o pH 3,0.

Kalibrační závislosti byly měřeny v koncentračních řádech 10^{-7} , 10^{-6} a 10^{-5} mol/l. Pro obě dvě techniky byla vhodná lineární kalibrační závislost získána v rozsahu koncentrací analytu 1–10 $\mu\text{mol/l}$. Pro pH 2 při DCV byla stanovena mez stanovitelnosti (*LOQ*) 0,11 $\mu\text{mol/l}$ a mez detekce (*LOD*) 0,034 $\mu\text{mol/l}$ a pro metodu DPV byla *LOQ* = 0,10 $\mu\text{mol/l}$ a *LOD* = 0,031 $\mu\text{mol/l}$. Pro pH 3 při DCV byla *LOQ* = 0,11 $\mu\text{mol/l}$ a *LOD* = 0,034 $\mu\text{mol/l}$, při DPV byla *LOQ* = 0,13 $\mu\text{mol/l}$ a *LOD* = 0,039 $\mu\text{mol/l}$.

Vyvinuté voltametrické metody DCV a DPV za získaných optimálních podmínek byly využité ke stanovení NTF v lékové formě v tabletě Furolin 100 mg/tableta. Jako srovnávací metoda byla použita UV–VIS absorpční spektrometrie. U léčiva Furolin byla spektrometrickou metodou zjištěná výtěžnost 114 %. Metodou DCV byla zjištěná výtěžnost 107 % a metodou DPV byla 99 %. Nejblíže k deklarovanému množství v obsahu NTF v léčivu je metoda DPV. Pokud bychom UV–VIS spektrofotometrii považovali za metodu primární (je rovněž doporučena jako metoda lékopisná [23]), pak by výtěžnosti vztažené vůči této metodě činily pro DCV na UTGE 94 % a pro DPV na UTGE 87 %.

6. Literatura

- [1] A. F. Alghamdi: **High Sensitivity Determination of Atorvastatin Calcium in Pharmaceuticals and Biological Fluids Using Adsorptive Anodic Stripping Voltammetry onto Surface of Ultra-Trace Graphite Electrode**, *Anal. Chem.*, 14 (2), 92–100, 2018.
- [2] Thomas F. G., Henze G.: **Introduction to Voltammetric Analysis: Theory and Practice**. CSIRO Publishing, Collingwood 2001.
- [3] Sadikoglu M., Saglikoglu G., Yagmur S., Orta E., Yilmaz S.: **Voltammetric Determination of Acyclovir in Human Urine Using Ultra Trace Graphite and Glassy Carbon Electrodes**, *Anal. Chem.*, 7 (2), 130–135, 2011.
- [4] <https://www.sigmaaldrich.com/CZ/en/product/sigma/n7878> (Sigma–Aldrich, SDS, Bezpečnostní list, verze 8.5, revize 29.01.2024), staženo 15. 7. 2024.
- [5] Hamman E.: **Determination of Nitrofurantoin Drug in Pharmaceutical Formulation and Biological Fluids by Square-Wave Cathodic Adsorptive Stripping Voltammetry**. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 30 (3), 651–659, 2002.
- [6] McOsker C. C., Fitzpatrick P. M.: **Nitrofurantoin: Mechanism of Action and Implications for Resistance Development in Common Uropathogens**. *J. Antimicrob. Chemother.*, 33 (Suppl. A), 23–30, 1994.
- [7] Koulaouzidis A., Bhat S., Moschos J., Tan C., De Ramon A.: **Nitrofurantoin-Induced Lung- and Hepatotoxicity**. *Ann. Hepatol.*, 6 (2), 119–121, 2007.
- [8] Munoz-Davila M. J.: **Role of Old Antibiotics in the Era of Antibiotic Resistance. Highlighted Nitrofurantoin for the Treatment of Lower Urinary Tract Infections**. *Antibiotics*, 3 (1), 39–48, 2014.
- [9] Wijma R. A., Fransen F., Muller A. E., Mouton J. W.: **Optimizing Dosing of Nitrofurantoin from a PK/PD Point of View: What Do We Need to Know?** *Drug Resist. Updates*, 43, 1–9, 2019.
- [10] Komp Lindgren P., Klockars O., Malmberg C., Cars O.: **Pharmacodynamic Studies of Nitrofurantoin against Common Uropathogens**. *J. Antimicrob. Chemother.*, 70 (4), 1076–1082, 2015.
- [11] Mahdizade Ari M., Dashtbin S., Ghasemi F., Shahroodian S., Kiani P., Bafandeh E., Darbandi T., Ghanavati R., Darbandi A.: **Nitrofurantoin: Properties and Potential in Treatment of Urinary Tract Infection: A Narrative Review**. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 13, 1148603, 2023.

- [12] Muller A. E., Verhaegh E. M., Harbarth S., Mouton J. W., Huttner A.: **Nitrofurantoin's Efficacy and Safety as Prophylaxis for Urinary Tract Infections: A Systematic Review of the Literature and Meta-Analysis of Controlled Trials.** *Clin. Microbiol. Infect.*, 23 (6), 355–362, 2017.
- [13] Recht J., Chansamouth V., White N. J., Ashley E. A.: **Nitrofurantoin and Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency: A Safety Review.** *JAC Antimicrob. Resist.*, 4 (3), dlac045, 2022.
- [14] https://prehledy.sukl.cz/prehled_liciv.html#/detail-reg/0241078 (Státní ústav pro kontrolu léčiv, nitrofurantoin, furolin 50 a 100 mg, příbalová informace), staženo 15. 7. 2024.
- [15] Karpman E., Kurzrock E. A.: **Adverse Reactions of Nitrofurantoin, Trimethoprim and Sulfamethoxazole in Children.** *J. Urol.*, 172 (2), 448–453, 2004.
- [16] Finzi J. K., Donato J. L., Sucupira M., De Nucci G.: **Determination of Nitrofurantoin Metabolites in Poultry Muscle and Eggs by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry.** *J. Chromatogr. B: Analyt Technol. Biomed. Life. Sci.*, 824 (1–2), 30–35, 2005.
- [17] Effkemann S., Feldhusen F.: **Triple-Quadrupole LC-MS-MS for Quantitative Determination of Nitrofurantoin Metabolites in Complex Food Matrixes.** *Anal. Bioanal. Chem.*, 378 (4), 842–844, 2004.
- [18] Mottier P., Khong S. P., Gremaud E., Richoz J., Delatour T., Goldmann T., Guy P. A.: **Quantitative Determination of Four Nitrofurantoin Metabolites in Meat by Isotope Dilution Liquid Chromatography–Electrospray Ionisation–Tandem Mass Spectrometry.** *J. Chromatogr. A*, 1067 (1–2), 85–91, 2005.
- [19] Muth P., Metz R., Siems B., Bolten W. W., Vergin H.: **Sensitive Determination of Nitrofurantoin in Human Plasma and Urine by High-Performance Liquid Chromatography.** *J. Chromatogr. A*, 729 (1–2), 251–258, 1996.
- [20] Hadi H., Mouayed M.: **Determination of Nitrofurantoin in Pharmaceutical Preparations Using Flow Injection-Spectrophotometry,** *J. Assoc. Arab. Univ. Basic Appl. Sci.*, 24, 74–80, 2017.
- [21] Channaa H., Surmann P.: **Voltammetric Analysis of N-Containing Drugs Using the Hanging Galinstan Drop Electrode (HGDE).** *Pharmazie*, 64 (3), 161–165, 2009.
- [22] de Lima-Neto P., Correia A. N., Portela R. R., Julião Mda S., Linhares-Junior G. F., de Lima J. E.: **Square Wave Voltammetric Determination of Nitrofurantoin in Pharmaceutical Formulations on Highly Boron-Doped Diamond Electrodes at Different Boron-Doping Contents.** *Talanta*, 80 (5), 1730–1736, 2010.
- [23] **Český lékopis 2017.** Grada Publishing, Praha 2017.