

UNIVERZITA KARLOVA  
Přírodovědecká fakulta

---

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie



Katarína Ďurčeková

VÝVOJ VOLTAMPÉROMETRICKÉHO STANOVENIA *N*-[3,5-BIS(TRIFLUÓRMETYL)-FENYL]-1-HYDROXYNAFTALÉN-2-KARBOXAMIDU NA ELEKTRÓDE ZO SKLENÉHO UHLÍKA

Development of Voltammetric Determination of *N*-[3,5-bis(trifluoromethyl)-phenyl]-1-hydroxynaphthalene-2-carboxamide on Glassy Carbon Electrode

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Jan Fischer, Ph.D.

Praha 2021

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

V Praze dne 18. června 2021.

Táto bakalárska práca bola finančne podporovaná Grantovou agentúrou Českej republiky (grant GACR 20-01589S). Ďalej ďakujem firme Metrohm ČR za technickú, materiálnu a intelektuálnu podporu.

Úvodom by som rada poďakovala svojmu školiteľovi RNDr. Janovi Fischerovi, Ph.D. za odborné vedenie, pomoc, cenné rady a pripomienky pri vypracovávaní tejto práce. Veľká vďaka patrí aj Prof. RNDr. Jiřímu Barkovi, CSc. a RNDr. Júliusovi Gajdárovi, Ph.D. za pomoc, venovaný čas a podporu. Zároveň ďakujem aj Prof. PharmDr. Josefovi Jampílkovi, Ph.D. za poskytnutie študovanej látky.

Súčasne ďakujem aj mojim rodičom, nie len za umožnenie môjho štúdia, ale aj za ich neustálu podporu pri napĺňaní mojich snov.

**Predmetové heslá:** analytická chémia

elektrochémia

**Kľúčové slová:** *N*-[3,5-bis(trifluórmetyl)-fényl]-1-hydroxynaftalén-2-karboxamid

sklený uhlík

diferenčná pulzná voltampérometria

cyklická voltampérometria

**Objective words:** analytical chemistry

electrochemistry

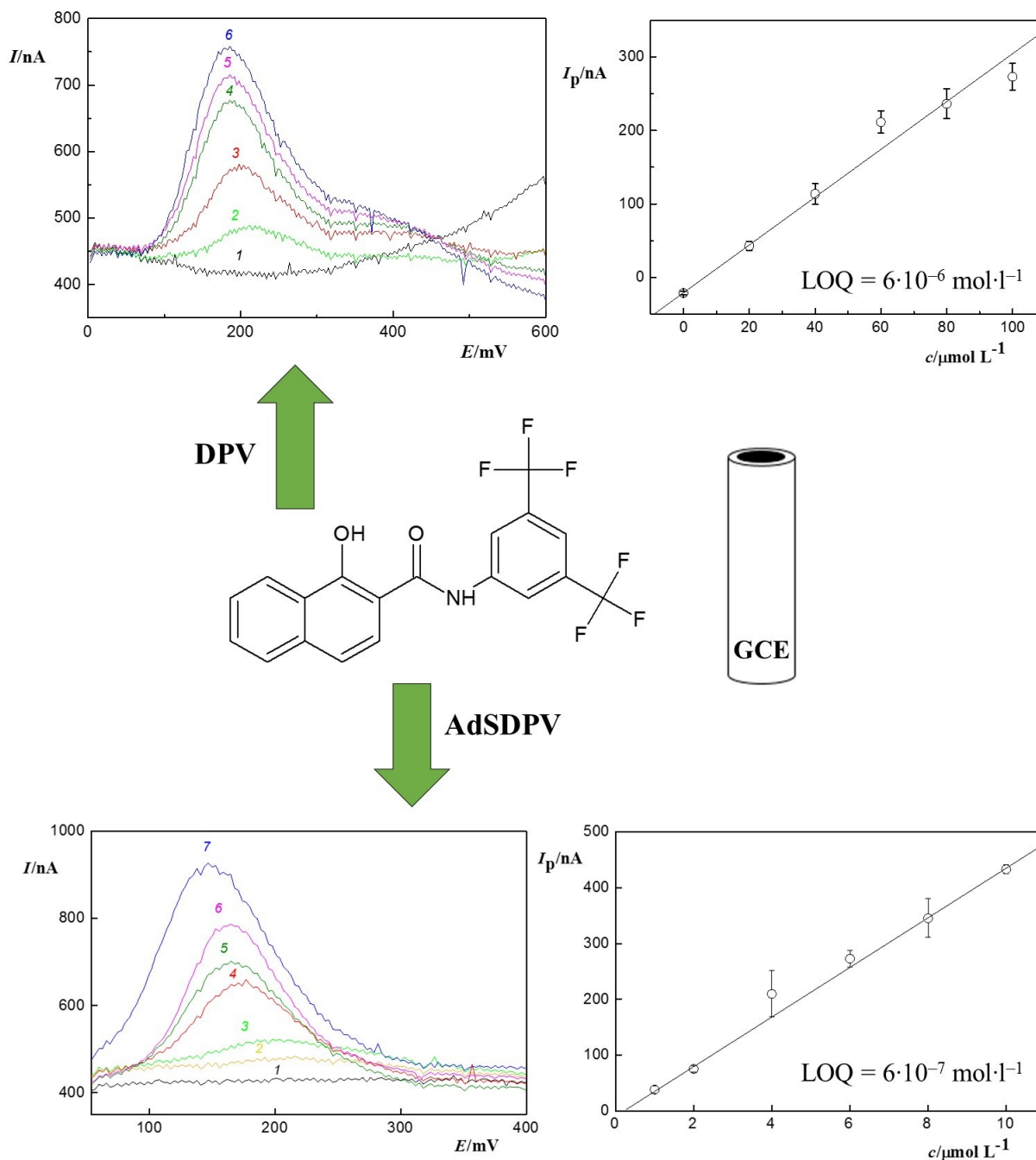
**Key words:** *N*-[3,5-bis(trifluoromethyl)-phenyl]-1-hydroxynaphthalene-2-carboxamide

glassy carbon

differential pulse voltammetry

cyclic voltammetry

## GRAFICKÝ ABSTRAKT



## HLAVNÉ PRÍNOSY PRÁCE

- Popis voltampérometrických vlastností *N*-[3,5-bis(trifluórmetyl)-fenyly]-1-hydroxynaftalén-2-karboxamidu na GCE
- Nájdenie optimálnych podmienok na stanovenie metódou DPV
- Optimalizované podmienky na stanovenie metódou AdSDPV
- Mechanizmus oxidácie analytu sledovaný metódou CV

## ABSTRAKT

Predkladaná bakalárska práca sa zaoberá štúdiom elektrochemického správania *N*-[3,5-bis(trifluórmetyl)-fenyl]-1-hydroxynaftalén-2-karboxamidu (NM33) na elektróde zo skleneného uhlíka (GC) metódami cyklickej a diferenčnej pulznej voltampérometrie. Skúmaná látka predstavuje jednu z novo syntetizovaných látok založených na štruktúre hydroxynaftalénkarboxanilidu, ktoré boli pripravené na Ústave chemických liečiv, VFU Brno. Mnohé z týchto látok vykazujú antibakteriálne a protinádorové účinky a predstavujú značný potenciál pre syntézu nových liečiv.

Cieľom tejto bakalárskej práce je optimalizácia podmienok pre stanovenie NM33 pomocou GC elektródy (GCE) metódou diferenčnej pulznej voltampérometrie (DPV). Metóda využíva prostredie zmesi Brittonovho-Robinsonovho (BR) pufru a dimetylsulfoxidu (DMSO) vo vzájomnom pomere 9:1 (v/v). Voltampérometrické správanie skúmanej látky bolo sledované v tomto prostredí v závislosti na pH. Za optimálne pH BR pufru bolo určené pH 8,0. V zmesi BR pufru (pH 8,0) a DMSO v pomere 9:1 boli študované kalibračné závislosti NM33 v koncentračnom rozsahu  $2 \cdot 10^{-6}$  až  $1 \cdot 10^{-4}$  mol·l<sup>-1</sup>. Bolo dosiahnuté limitu stanoviteľnosti  $6 \cdot 10^{-6}$  mol·l<sup>-1</sup>.

Následne boli optimalizované podmienky pre stanovenie NM33 s adsorptívnou akumuláciou v rovnakom prostredí ako v predchádzajúcom prípade metódou DPV. Najskôr bol určený vhodný akumulčný čas  $t_{\text{akum}} = 40$  s a akumulčný potenciál  $E_{\text{akum}} = 50$  mV na stanovenie skúmanej látky. Následne boli pri týchto podmienkach zostrojené kalibračné závislosti v koncentračnom rozsahu  $2 \cdot 10^{-7}$  až  $1 \cdot 10^{-5}$  mol·l<sup>-1</sup>. Dosiahnutý limit stanoviteľnosti bol  $6 \cdot 10^{-7}$  mol·l<sup>-1</sup>.

## ABSTRACT

This bachelor thesis deals with the study of electrochemical behaviour of *N*-[3,5-bis(trifluoromethyl)-phenyl]-1-hydroxynaphthalene-2-carboxamide (NM33) on glassy carbon electrode (GCE) by differential pulse voltammetry (DPV) and cyclic voltammetry (CV). The studied substance is one of the newly synthesized drugs which are based on the structure of hydroxynaphthalenecarboxanilide and which were synthesized in *Department of Chemical Drugs, The University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno*. Many of these substances show antibacterial and antitumor effects and they have a big potential for the development of new drugs.

The aim of this bachelor thesis is to find optimal conditions for the DPV determination of NM33 on a GCE. The method uses Britton-Robinson (BR) buffer and dimethyl sulfoxide (DMSO) mixed medium (9:1, v/v). The voltammetric behaviour of the substance was monitored in this medium at different pH. The optimal pH 8.0 of the BR buffer was selected. Calibration dependences of NM33 were measured in the concentration range from  $2 \cdot 10^{-6}$  to  $1 \cdot 10^{-4}$  mol·l<sup>-1</sup> in BR buffer (pH 8.0) and DMSO mixed medium (9:1, v/v). Limit of determination was  $6 \cdot 10^{-6}$  mol·l<sup>-1</sup>.

In the second part of the work, conditions for the determination of NM33 with adsorptive accumulation in the same above-mentioned medium were optimized using DPV. First, optimal accumulation time  $t_{\text{akum}} = 40$  s and accumulation potential  $E_{\text{akum}} = 50$  mV were chosen for the determination of the tested substance. Then, under these conditions, calibration dependences of NM33 were constructed in the concentration range from  $2 \cdot 10^{-7}$  to  $1 \cdot 10^{-5}$  mol·l<sup>-1</sup>. Limit of determination was found to be  $6 \cdot 10^{-7}$  mol·l<sup>-1</sup>.

# OBSAH

1	TEORETICKÁ ČASŤ .....	10
1.1	Cieľ práce .....	10
1.2	Študovaná látka.....	10
1.3	Elektrochemická aktivita študovanej látky .....	11
1.4	Používané elektródy.....	12
1.5	Používané metódy.....	13
2	EXPERIMENTÁLNA ČASŤ .....	14
2.1	Reagencie a príprava roztokov .....	14
2.2	Aparatúra .....	14
2.3	Pracovné postupy.....	15
2.3.1	Meranie s elektródou zo skleneného uhlíka .....	15
2.3.2	Vyhodnotenie voltampérometrických kriviek a nameraných dát .....	15
3	VÝSLEDKY A DISKUSIA .....	17
3.1	Vplyv pH na správanie látky NM33 .....	17
3.2	Koncentračné závislosti látky NM33.....	19
3.3	Optimalizácia akumuláčnych podmienok.....	22
3.4	Koncentračné závislosti pre stanovenie látky NM33 metódou AdSDPV .....	25
3.5	Skúmanie mechanizmu oxidácie látky NM33 pomocou cyklickej voltampérometrie... ..	28
4	ZÁVER .....	30
5	LITERATÚRA .....	31



## ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK

AdSDPV	adsorptívna rozpúšťacia diferenčná pulzná voltampérometria
BR pufor	Brittonov-Robinsonov pufor
$c$	molárna koncentrácia
CV	cyklická voltampérometria
DPV	diferenčná pulzná voltampérometria
$E$	potenciál
$E_{akum}$	akumulačný potenciál
$E_p$	potenciál píku
GC	sklený uhlík
GCE	elektroda zo skleneného uhlíka
$I$	prúd
$I_p$	prúd píku
$L_{1,2}$	interval spoľahlivosti
LOQ	limit stanoviteľnosti
$n$	počet meraní
NM33	<i>N</i> -[3,5-bis(trifluórmetyl)-fenyl]-1-hydroxynaftalén-2-karboxamid
pH	záporný dekadický logaritmus aktivity iónov $H_3O^+$
$t$	čas
$t_{akum}$	akumulačný čas
$v$	rýchlosť polarizácie elektródy

# 1 TEORETICKÁ ČASŤ

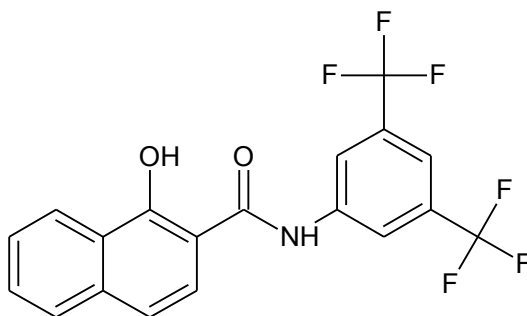
## 1.1 Cieľ práce

Hlavným predmetom skúmania tejto bakalárskej práce je štúdium elektrochemickej oxidácie *N*-[3,5-bis(trifluórmetyl)-fenyl]-1-hydroxynaftalén-2-karboxamidu (NM33 – toto označenie bolo prevzaté z pôvodných prác <sup>1,2</sup>) na elektróde zo skleného uhlíka (GCE) s využitím voltampérometrických metód. Uvedená zlúčenina bola skúmaná diferenčnou pulznou voltampérometriou (DPV) s cieľom jej využitia na stanovenie NM33 a cyklickou voltampérometriou (CV) s cieľom objasniť mechanizmus elektródových reakcií a poskytnúť informácie o jej potenciálnom použití na návrh nových liečiv.

Práca nadväzuje na už publikované pilotné štúdie <sup>1,2</sup>, venujúce sa hľadaniu optimálnych podmienok na voltampérometrické stanovenie látok s podobnou štruktúrou ako NM33<sup>1</sup> a vzťahu medzi štruktúrou týchto látok, ich elektrochemickým potenciálom a biologickou aktivitou<sup>2</sup>.

## 1.2 Študovaná látka

Látka NM33 predstavuje jednu z novo syntetizovaných látok založených na štruktúre hydroxynaftalénkarboxanilidu, ktoré boli pripravené na Ústave chemických liečiv, VFU Brno. Bolo dokázané, že mnohé z týchto látok vykazujú antibakteriálne<sup>3,4</sup> a protinádorové účinky<sup>5-7</sup> a predstavujú značný potenciál pre syntézu nových liečiv.



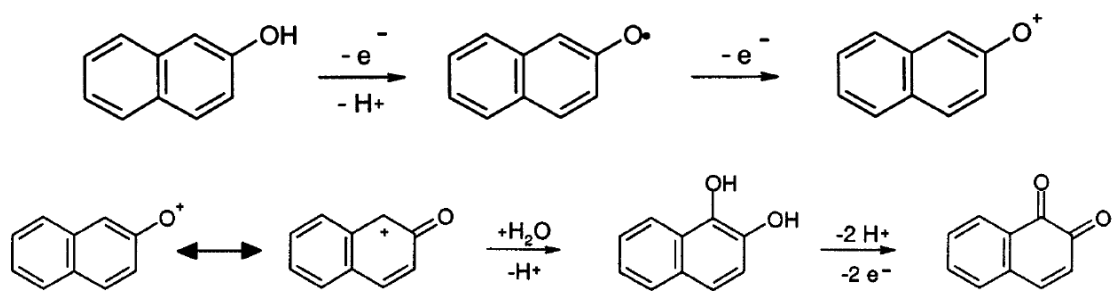
**Obr. 1.1** Chemická štruktúra *N*-[3,5-bis(trifluórmetyl)-fenyl]-1-hydroxynaftalén-2-karboxamidu (NM33)

V predchádzajúcej štúdií <sup>2</sup> bol metódou *in vitro* vôbec prvýkrát testovaný účinok 1-hydroxynaftalén-2-karboxanilidov na baktériách *Mycobacterium tuberculosis*, patogénov spôsobujúcich ochorenie tuberkulóza. Ukázalo sa, že biologická aktivita týchto látok je vyššia alebo porovnateľná s bežne používanými liečivami, čo by mohlo pomôcť v boji proti tomuto

ochoreniu, ktoré je podľa WHO aj v súčasnosti jednou z desiatich najčastejších príčin úmrtí vo svete.

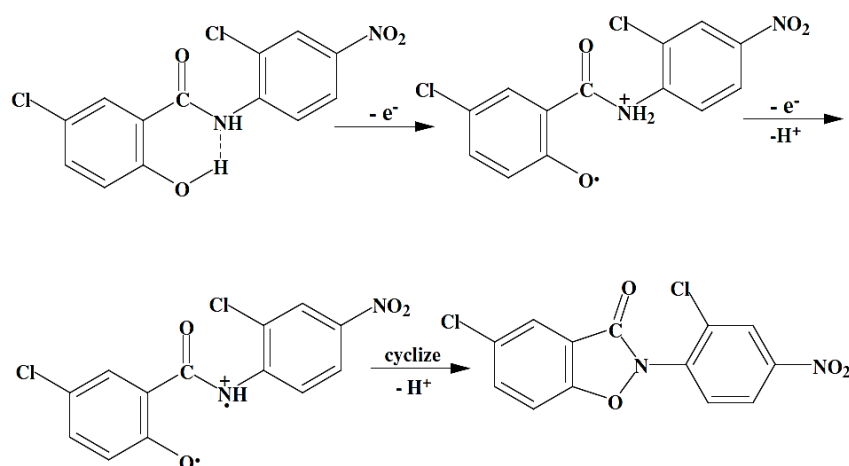
### 1.3 Elektrochemická aktivita študovanej látky

NM33 obsahuje elektrochemicky aktívnu oxidovateľnú hydroxylovú skupinu na naftalénovom jadre (viď Obr. 1.1). Hydroxylová skupina v štruktúrne podobných zlúčeninách bola študovaná na GCE<sup>8, 9</sup> a na bórom dopovaných diamantových elektródach (BDD)<sup>10</sup> a na základe získaných výsledkov bol navrhnutý nasledujúci mechanizmus oxidácie skúmaných zlúčenín. Oxidácia naftolových resp. fenolových zlúčenín začína deprotonáciou a jednoelektrónovou oxidáciou za vzniku oxo-radikálu. Tento radikál sa potom môže zúčastniť rôznych paralelných reakcií za vzniku derivátov chinónu (viď Obr. 1.2) alebo niektorých kopulačných reakcií za tvorby polymérneho filmu, ktorý nanešťastie prispieva k pasivácii elektród<sup>9-11</sup>.



**Obr. 1.2** Navrhnutý mechanizmus anodickej oxidácie 2-naftolu za vzniku 1,2-naftochinónu ako konečného produktu. Schéma podľa Panizza et al.<sup>10</sup>

V štúdiu niclosamidu (zlúčeniny štruktúrne podobnej NM33) je navrhnuté, že zlúčenina je najskôr deprotonovaná a potom oxidovaná stratou dvoch elektrónov za vzniku bi-radikál kationu, ktorý ďalej podlieha intermolekulárnej cyklizácii<sup>12</sup>.



**Obr. 1.3** Navrhnutý mechanizmus elektrochemickej oxidácie niclosamidu na GCE. Schéma podľa Alemu et al.<sup>12</sup>

#### 1.4 Používané elektródy

Uhlíkové elektródy majú vďaka viacerým jedinečným vlastnostiam uhlíka významné postavenie v elektrochémii. Nízka cena, široké potenciálové okno, bohatá povrchová chémia, relatívne dobre preštudovaná elektrochémia, nízke prúdy pozadia či elektrokatalytická aktivita pre variáciu redoxných reakcií patria medzi výhody uhlíkových elektród, ktoré spôsobili ich rozšírené použitie v elektroanalytickej chémii<sup>13</sup>. Elektrochemické vlastnosti elektród na báze uhlíka sú často nadriadené tým z ušľachtilých kovov v skúmaní oxidácie a redukcie organických a biologicky aktívnych molekúl vo vodných aj v nevodných prostrediach<sup>14</sup>.

Sklený uhlík (GC) je používaný ako elektródový materiál od jeho predstavenia v 60-tych rokoch minulého storočia<sup>15</sup>. Je používaný veľmi často vďaka jeho výborným mechanickým a chemickým vlastnostiam, širokému potenciálovému rozsahu, chemickej inertnosti a nepriepustnosti pre plyny. Vykazuje extrémne nízku porozitu a je kompatibilný so všetkými bežnými rozpúšťadlami<sup>13</sup>.

Takmer všetky GCE sú zvyčajne leštené pomocou malých častíc alumíny (o veľkosti cca 0,05  $\mu\text{m}$ ) na hladkej leštiacej látke. Odozva GCE závisí na leštiacom materiáli a použitom postupe. Niektoré máttuce odozvy sa môžu objaviť ako následok postupu leštenia. Leštiace techniky spadajú pod kategóriu aktivácie elektród a patria k jedným zo spôsobov zvýšenia rýchlosti prenosu elektrónu. Ďalším spôsobom je termálna aktivácia, ktorá predstavuje zahrievanie GCE vo vákuu. To vedie ku GCE povrchu s výborným správaním, proces je však pomalý a nepraktický pre rýchle a opakované použitie<sup>13</sup>.

## 1.5 Používané metódy

Cyklická voltampérometria (CV) je populárna elektrochemická metóda bežne používaná na skúmanie redukčných a oxidačných procesov organických molekúl<sup>16</sup>. Je využívaná hlavne na získavanie kvalitatívnych informácií o elektrochemických reakciách, pretože z priebehu cyklických voltampérogramov je možné usudzovať na mechanizmus elektrochemických reakcií<sup>17</sup>. Pri použití CV sa na stacionárnu elektródu v nemiešanom roztoku vkladá potenciál trojuholníkového priebehu s rôznou rýchlosťou zmeny (rýchlosť polarizácie)<sup>18</sup>. Vkladaný potenciál sa plynulo mení (klesá alebo stúpa) od počiatočného potenciálu do konečného potenciálu (priamy smer) a vzápätí sa vracia do počiatočného potenciálu spravidla rovnakou rýchlosťou (spätný smer). Odozvou systému je cyklický voltampérogram, resp. závislosť prúdu pretekajúceho elektródou na vložení potenciáli. Katodická krivka je označená pre nameranú závislosť v smere k negatívnym potenciálom, anodická krivka je zaznamenaná v smere k pozitívnym potenciálom<sup>16,19,20</sup>.

Z pulzných metód má pre elektroanalytickú chémiu najväčší význam diferenčná pulzná voltampérometria (DPV). Pri tejto metóde sa potenciál, ktorý sa s časom mení lineárne, prekladá potenciálovými pulzmi o amplitúde rádovo desiatok mV a dobe trvania desiatok ms. Registruje sa rozdiel prúdov zmeraných tesne pred vložením potenciálového pulzu a na jeho konci. Voltampérometrická krivka má tvar píku, pričom poloha jeho vrcholu na potenciálovej osi je blízka polovlnovému potenciálu a výška píku je závislá na koncentrácii analytu<sup>21</sup>.

Adsorptívna rozpúšťacia diferenčná pulzná voltampérometria (AdSDPV) je metóda, pri ktorej je analyt nakoncentrovaný na povrchu elektródy adsorpciou pri určitom potenciáli počas vhodne zvoleného akumuláčného času. Po nakoncentrovaní je možné elektrochemicky aktívny analyt stanoviť z výšky píku pri jeho oxidácii či redukcii. Tento spôsob nakoncentrovania má hlavný význam pri stanovovaní stopových množstiev organických látok<sup>18</sup>. Použitie AdSDPV v porovnaní s DPV umožňuje znížiť limit stanoviteľnosti niektorých látok až o niekoľko rádov.

## 2 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

### 2.1 Reagencie a príprava roztokov

Používané roztoky boli pripravené presným odmeraním, prípadne odvážením, vypočítaného množstva danej chemikálie a doplnením príslušného rozpúšťadla v odmernej banke po rysku.

Zásobný roztok NM33 (VFU Brno) o koncentrácii  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  bol pripravený rozpustením 3,99 mg v 10 ml dimetylsulfoxidu (DMSO, Lach-Ner, ČR). Roztoky o nižších koncentráciách boli pripravené presným riedením zásobného roztoku dimetylsulfoxidom. Roztoky boli uchovávané v tme a pri laboratórnej teplote.

Ďalšie použité chemikálie boli kvality p.a. a boli použité bez akéhokoľvek ďalšieho čistenia: kyseliny fosforečná (85 %), hydroxid sodný, metanol (Penta, ČR), kyselina octová (99 %) (Lachema, ČR), kyselina boritá (Lach-Ner, ČR), oxid hlinitý (veľkosť častíc  $0,5 \mu\text{m}$ , Elektrochemické detektory, ČR).

Brittonov-Robinsonov (BR) pufoer o príslušnom pH bol pripravený zmiešaním jeho zásaditej zložky v podobe  $0,2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  hydroxidu sodného a kyslej zložky, tvorenej tromi kyselinami: fosforečnou, octovou a boritou, každá s koncentráciou  $0,04 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ , vo vhodnom pomere. Presná hodnota pH bola meraná digitálnym pH-metrom s kombinovanou sklenenou elektródou (Jenway 3510, UK). pH-meter bol kalibrovaný štandardnými vodnými puframi pri laboratórnej teplote.

Na prípravu všetkých roztokov bola použitá deionizovaná voda (Millipore Milli plus Q systém, USA), ktorej odpor nebol menší než  $18,2 \text{ M}\Omega$ . Všetky roztoky boli uchovávané v sklenených nádobách. Experimentálne merania boli uskutočnené za laboratórnej teploty.

### 2.2 Aparatúra

Voltampérometrické merania boli prevedené na prístroji Eco-Tribo Polarograph so softwarom PolarPro 5.1, firma Polaro-Sensors, Praha. Software pracoval v operačnom systéme Windows XP.

Merania boli prevedené v konvenčnom trojelektrodovom zapojení. Ako referenčná elektróda bola použitá argenchloridová elektróda ( $\text{Ag} | \text{AgCl} | 3 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{ KCl}$ ), ako pomocná bola použitá platinová drôtová elektróda (obe Elektrochemické detektory, ČR). Ako pracovná

elektroda bola použitá GCE v teflonovom tele s priemerom aktívnej časti 2 mm (Metrohm, Švajčiarsko).

## 2.3 Pracovné postupy

### 2.3.1 Meranie s elektrodou zo skleneného uhlíka

Pred každým meraním bola GC elektroda leštená na podložke s čiastočkami aluminy o veľkosti 0,5  $\mu\text{m}$  krúživými pohybmi po dobu asi 2 minút. Elektroda bola po vyleštení dočistená ultrazvukom najskôr v metanole, a potom v deionizovanej vode, v oboch prípadoch po dobu 30 sekúnd, na odstránenie čiastočiek aluminy z povrchu elektrody.

Pri technike DPV boli na elektrodu vkladané pulzy s výškou 50 mV a šírkou 100 ms so vzorkovaním prúdu posledných 20 ms pri rýchlosti scanu  $v = 20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . Pri meraní cyklického voltampérogramu bola zvolená rýchlosť polarizácie  $v = 50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Pred každou sadou meraní bola dvakrát zmeraná len základná línia základného elektrolytu. Základný elektrolyt bol pripravený z 9,00 ml BR pufru a doplnením DMSO na objem 10,00 ml. Následne bolo prevedené meranie so študovanou látkou.

Pri meraniach bolo do voltametrickej nádoby odpipetované 9,00 ml BR pufru, príslušné množstvo roztoku študovanej látky v DMSO a zmes bola nakoniec doplnená DMSO na objem 10,00 ml. Vždy bolo merané pH BR pufru pH-metrom so sklenenou elektrodou kalibrovanou na pH štandardných vodných pufov. Meranie bolo teda uskutočnené v prostredí zmesi BR pufru a DMSO v pomere 9:1 (v/v) tak, aby celkový objem zmesi v nádobke bol 10,00 ml. Potom bol zaznamenaný príslušný voltampérogram. Pred každým ďalším meraním bola elektroda leštená na podložke s aluminou a dočistená ultrazvukom spôsobom uvedeným vyššie. Všetky krivky boli merané minimálne trikrát a štatisticky vyhodnotené. Merania boli prevedené za laboratórnej teploty.

Jednotlivé kalibračné závislosti boli merané časovo oddelene, na rôznych povrchoch elektrody. Veľkosti prúdov pík neboli normalizované a zjednotené, a preto nie sú veľmi reprodukovateľné.

### 2.3.2 Vyhodnotenie voltampérometrických kriviek a nameraných dát

Spracovanie nameraných voltampérometrických kriviek bolo vykonané v programe PolarPro 5.1. Vyhodnocovanie pík získaných technikou CV bolo prevedené od priamky

získanej predĺžením základnej línie. Odčítanie potenciálov a výšok píkov nameraných metódou DPV bolo prevedené od spojnice miním na oboch stranách píku.

Každý experiment bol vždy opakovaný maximálne šesťkrát, určil sa preto medián  $\tilde{x}$  a smerodajná odchýlka  $s$  bola určená z príslušného tabelovaného koeficientu  $k_n$ , kde  $n$  je počet meraní, a rozpätia  $R$  ( $R = x_{\max} - x_{\min}$ ). Interval spoľahlivosti  $L_{1,2}$  bol získaný vynásobením tabelovaného koeficientu,  $K_n$ , a smerodajnej odchýlky,  $s$ . Intervaly spoľahlivosti a smerodajné odchýlky boli určené na hladine pravdepodobnosti  $\alpha = 0,05$ .

Hodnoty limitu stanoviteľnosti (LOQ) boli vypočítané ako desaťnásobok smerodajnej odchýlky prúdov pík (pre počet meraní  $n = 10$ ) pre najnižšiu nameranú koncentráciu, vydelené smernicou príslušnej kalibračnej závislosti.

Štatistické vyhodnotenia a výpočty boli spracované v programe Microsoft Excel a grafy boli skonštruované v programe OriginPro 2016. Do grafov boli ako neistoty hodnôt vynášané chybové úsečky zodpovedajúce intervalu spoľahlivosti na hladine významnosti  $\alpha = 0,05$ .



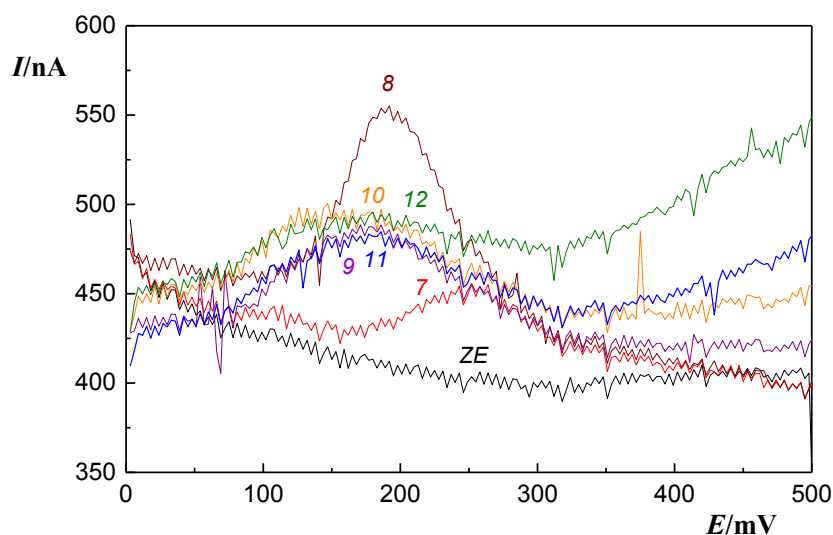
## 3 VÝSLEDKY A DISKUSIA

### 3.1 Vplyv pH na správanie látky NM33

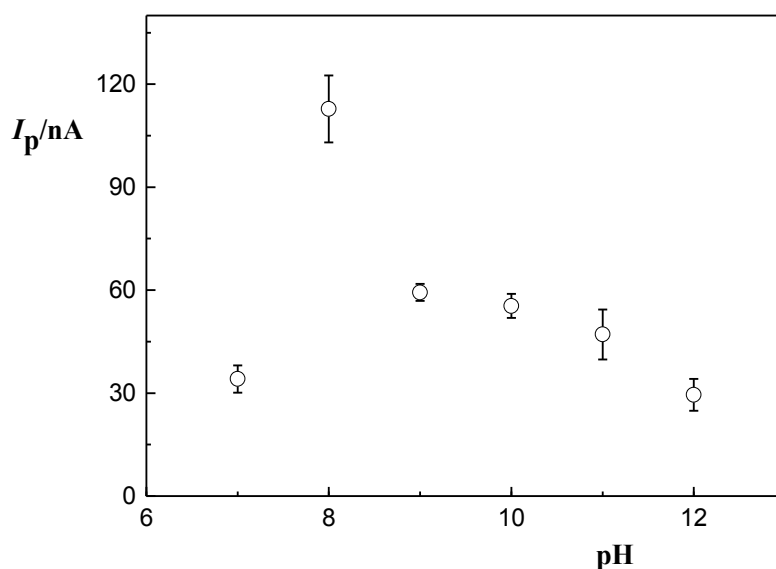
Vplyv pH na elektrochemické správanie látky NM33 pri DPV na GCE bol sledovaný v zmesi BR pufru a DMSO (9:1, v/v) v rozmedzí pH pufru 7,0 – 12,0 s krokom po jednotke pH. Výsledná koncentrácia látky NM33 v meranom roztoku bola  $2 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Rozsah pH bol daný tým, že pri pH 6,0 sa analyzovaná látka vyzrážala z roztoku, vznikla opalizujúca zmes a roztok sa zakalil. Namerané voltampérometrické krivky sú zobrazené na **Obr. 3.1**.

Zistené závislosti veľkosti prúdu píku  $I_p$  a potenciálu píku  $E_p$  na pH sú zhrnuté na **Obr. 3.2** a **Obr. 3.3**. Výška píku v závislosti na pH nemá lineárny charakter. Pri pH 8,0 však pozorujeme výrazný vzrast výšky píku v porovnaní s ostatnými meraniami pri iných pH BR pufru. Namerané píky pri pH 9,0 – 12,0 neboli ostré a výrazné, ale široké, a potenciál maximálnej prúdovej odozvy sa pri opakovaných meraniach menil. Preto je polovlnový potenciál NM33 v tomto rozmedzí pH určený s väčšou nepresnosťou.

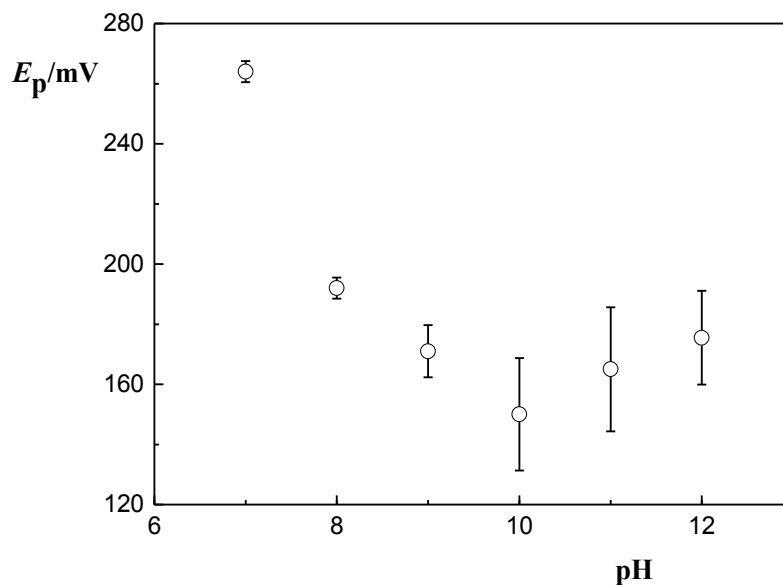
Pre nasledujúce merania bolo po vyhodnotení voltampérogramov a na základe nameraných prúdov píkov a ich potenciálov ako optimálne prostredie zvolené prostredie BR pufru s pH 8,0, pretože pri tomto pH poskytuje analyt najväčšiu prúdovú odozvu.



**Obr. 3.1** DP voltampérogramy látky NM33 ( $c = 20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) na GCE v zmesi BR pufru (pH 7,0 – 12,0) a DMSO (9:1, v/v). Parametre DPV: výška pulzu 50 mV, šírka pulzu 100 ms, vzorkovanie prúdu posledných 20 ms, rýchlosť nárastu potenciálu  $20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . Hodnoty pH pufru sú uvedené pri krivkách. Čierna krivka ZE zodpovedá základnému elektrolytu (zmes BR pufru s pH 7,0 a DMSO v pomere 9:1), ostatné krivky zodpovedajú meranej látke.



**Obr. 3.2** Závislosť veľkosti prúdu piku látky NM33 ( $c = 20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) na pH BR pufru meraná metódou DPV na GCE v zmesi BR pufru (pH 7,0 – 12,0) a DMSO (9:1, v/v). Parametre DPV rovnaké ako pri **Obr. 3.1**.



**Obr. 3.3** Závislosť potenciálu píku látky NM33 ( $c = 20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) na pH BR pufru meraná metódou DPV na GCE v zmesi BR pufru (pH 7,0 – 12,0) a DMSO (9:1, v/v). Parametre DPV rovnaké ako pri **Obr. 3.1**.

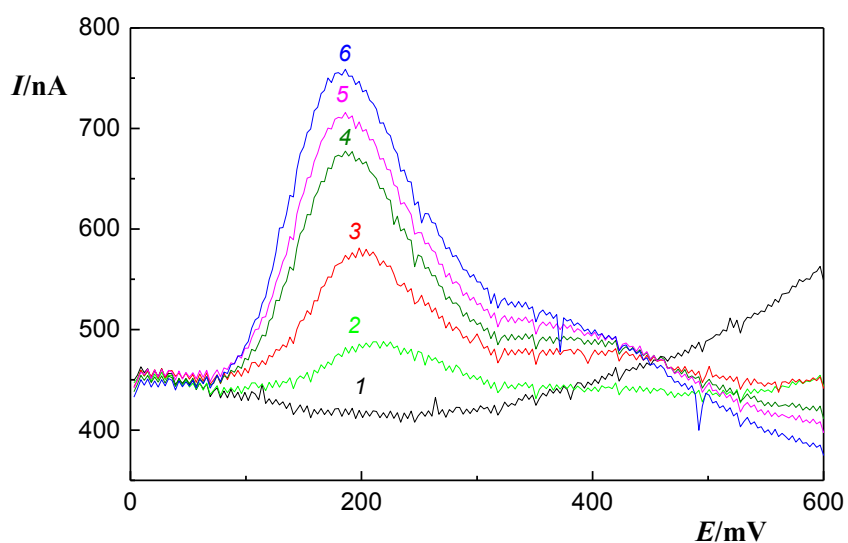
### 3.2 Koncentračné závislosti látky NM33

Po zistení vhodných podmienok na DPV stanovenie látky NM33 (zmes BR pufru (pH 8,0) a DMSO (9:1, v/v)) bola premeraná koncentračná závislosť v rozmedzí  $2\cdot 10^{-6}$  až  $1\cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ .

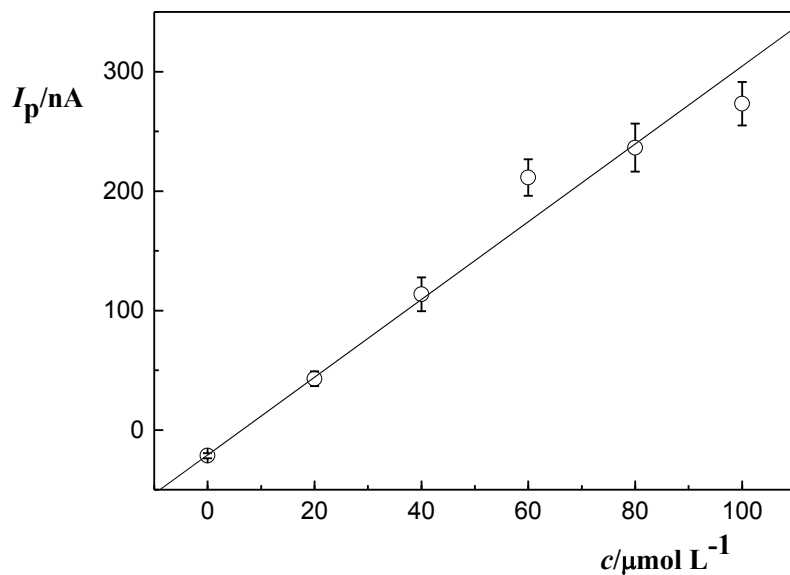
Voltampérogramy látky NM33 v rozmedzí koncentrácií  $2\cdot 10^{-5}$  až  $1\cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  sú uvedené na **Obr. 3.4**. Kalibračná závislosť z výšok píkov pre uvedené koncentračné rozmedzie analytu je zobrazená na **Obr. 3.5**. Píky látky NM33 ležia v sedle základného elektrolytu, ich výška nebola korigovaná, a preto kalibračná závislosť neprechádza nulou. Kalibračná závislosť na **Obr. 3.5** preto bola doplnená o bod, ktorý zodpovedá nulovej koncentrácii NM33 a prúdu sedla základného elektrolytu.

Voltampérogramy látky NM33 v rozmedzí koncentrácií  $2\cdot 10^{-6}$  až  $1\cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  sú uvedené na **Obr. 3.6**. Kalibračná závislosť z výšok píkov pre uvedené koncentračné rozmedzie analytu je zobrazená na **Obr. 3.7**. Pri koncentráciách  $2\cdot 10^{-6}$  a  $4\cdot 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  nebolo možné z voltampérogramu odčítať výšku píku. Spôsobilo to šumenie signálu základného elektrolytu a nedostatočná výška signálu.

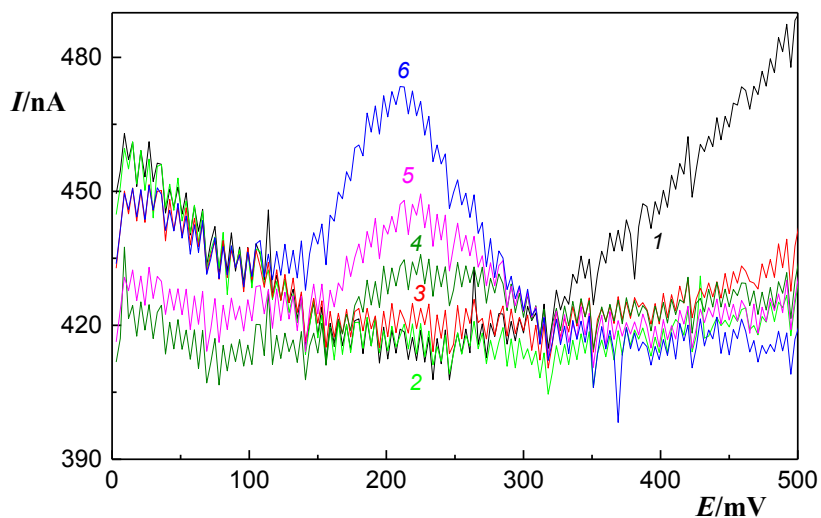
Vypočítaná hodnota limitu stanoviteľnosti (LOQ) bola  $3,0\cdot 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Z voltampérogramov vidíme, že najnižšia prakticky zmerateľná koncentrácia je  $6\cdot 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ .



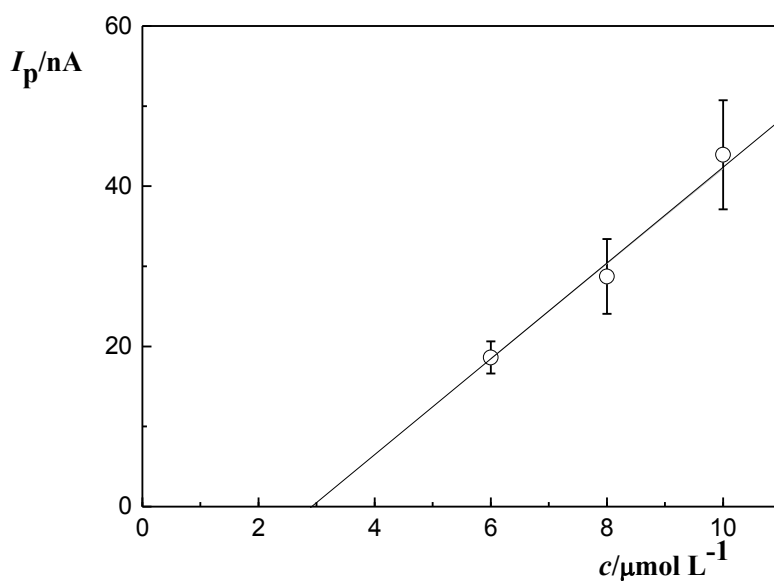
**Obr. 3.4** DP voltampérogramy látky NM33 na GCE v zmesi 10 ml BR pufru (pH 8,0) a DMSO (9:1, v/v) pri koncentráciách NM33  $c = 0$  (1);  $2 \cdot 10^{-5}$  (2);  $4 \cdot 10^{-5}$  (3);  $6 \cdot 10^{-5}$  (4);  $8 \cdot 10^{-5}$  (5) a  $1 \cdot 10^{-4}$  (6)  $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Parametre DPV rovnaké ako pri **Obr. 3.1**.



**Obr. 3.5** Závislosť prúdu píku  $I_p$  na koncentrácii látky NM33 v rozmedzí  $2 \cdot 10^{-5}$  až  $1 \cdot 10^{-4}$   $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$  nameraná na GCE metódou DPV v zmesi BR pufru (pH 8,0) a DMSO (9:1, v/v). Kalibračná závislosť je doplnená o o bod, ktorý zodpovedá nulovej koncentrácii NM33 a prúdu sedla základného elektrolytu. Parametre DPV rovnaké ako pri **Obr. 3.1**.



**Obr. 3.6** DP voltampérogramy látky NM33 na GCE v 10 ml zmesi BR pufru (pH 8,0) a DMSO (9:1, v/v) pri koncentráciách NM33  $c = 0$  (1);  $2 \cdot 10^{-6}$  (2);  $4 \cdot 10^{-6}$  (3);  $6 \cdot 10^{-6}$  (4);  $8 \cdot 10^{-6}$  (5) a  $1 \cdot 10^{-5}$  (6)  $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Parametre DPV rovnaké ako pri **Obr. 3.1**.



**Obr. 3.7** Závislosť prúdu píku  $I_p$  na koncentrácii látky NM33 v rozmedzí  $2 \cdot 10^{-6}$  až  $1 \cdot 10^{-5}$   $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$  nameraná na GCE metódou DPV v zmesi BR pufru (pH 8,0) a DMSO (9:1, v/v). Parametre DPV rovnaké ako pri **Obr. 3.1**.

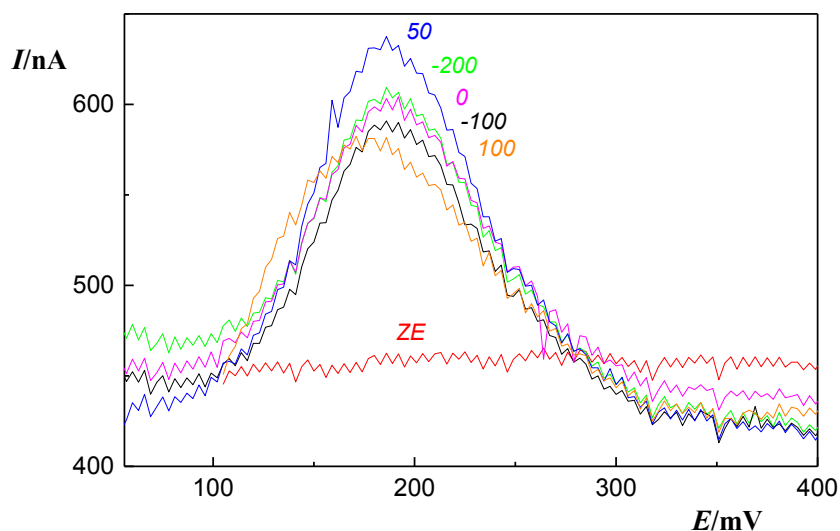
### 3.3 Optimalizácia akumulčných podmienok

Vzhľadom na štruktúru NM33 bola sledovaná možnosť stanovenia pomocou adsorptívnej rozpúšťacej DPV (AdSDPV). Vplyv akumulčného potenciálu na elektrochemické správanie látky NM33 pri AdSDPV na GCE bol sledovaný v zmesi BR pufru a DMSO (9:1, v/v) s časom akumulácie 60 s v rozmedzí akumulčného potenciálu  $-200$  až  $100$  mV s krokom po  $100$  mV. Jedna skupina meraní bola uskutočnená aj pri akumulčnom potenciáli  $50$  mV. Na merania bol použitý roztok látky NM33 s koncentráciou  $8 \cdot 10^{-6}$  mol $\cdot$ l $^{-1}$ . Namerané voltampérogramy sú uvedené na **Obr. 3.8**.

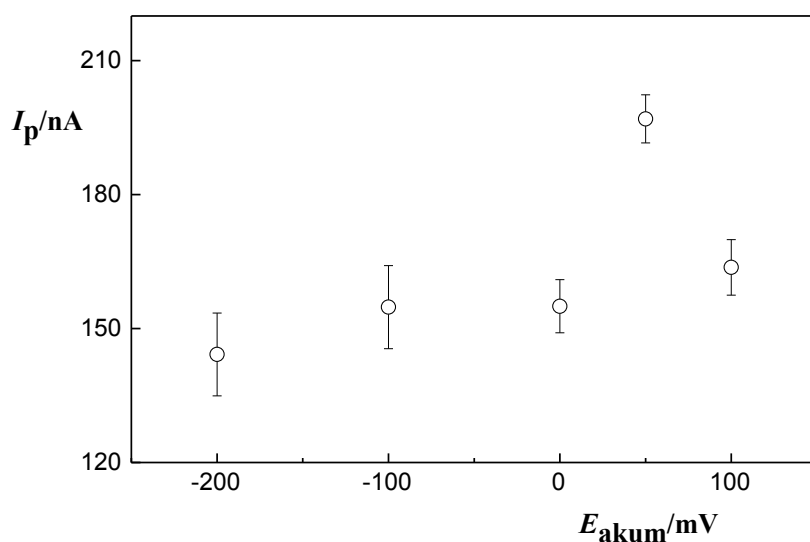
Zistené závislosti veľkosti prúdu píku  $I_p$  na akumulčnom potenciáli  $E_{akum}$  sú zhrnuté na **Obr. 3.9**. Výška píku v závislosti na akumulčnom potenciáli nemá lineárny charakter. Pri potenciáli  $50$  mV však pozorujeme výrazný vzrast výšky píku v porovnaní s ostatnými meraniami. Za optimálny akumulčný potenciál bol zvolený potenciál  $50$  mV, pretože pri ňom analyt poskytoval najväčšiu prúdovú odozvu. Pri pozitívnejšom potenciáli dochádza k oxidácii analytu, pri negatívnejšom potenciáli je negatívne nabitá molekula analytu odpudzovaná od elektródy. Pri tejto hodnote akumulčného potenciálu ( $E_{akum} = 50$  mV) bol následne optimalizovaný akumulčný čas.

Vplyv akumulčného času na elektrochemické správanie látky NM33 pri DPV na GCE bol sledovaný v zmesi BR pufru a DMSO (9:1, v/v) pri akumulčnom potenciáli  $50$  mV. Merania boli uskutočnené pri akumulčných časoch  $0, 10, 20, 40, 60, 120$  a  $300$  s. Na merania bol použitý roztok látky NM33 s koncentráciou  $8 \cdot 10^{-6}$  mol $\cdot$ l $^{-1}$ . Namerané voltampérogramy sú uvedené na **Obr. 3.10**.

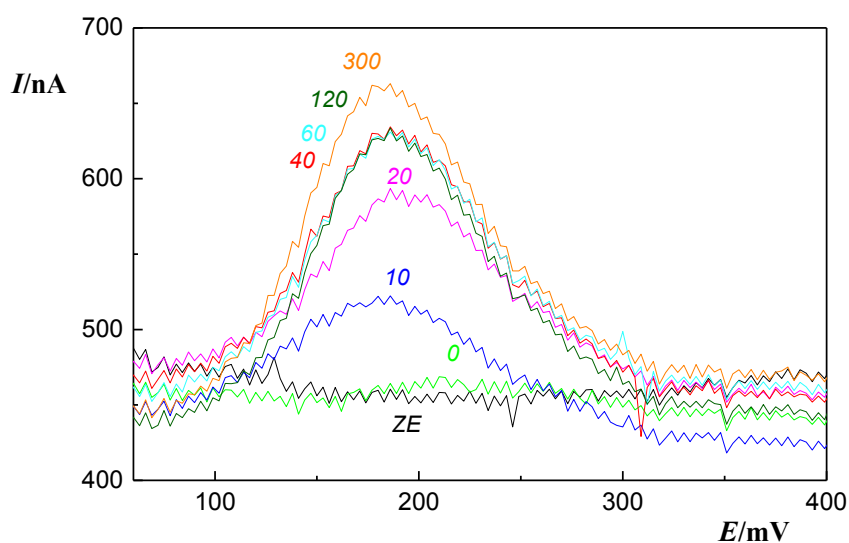
Zistené závislosti veľkosti prúdu píku  $I_p$  na akumulčnom čase  $t_{akum}$  sú zhrnuté na **Obr. 3.11**. Výška píku v závislosti na akumulčnom čase má hyperbolický charakter. Za optimálny akumulčný čas bol zvolený čas  $40$  s, pri ktorom je pík dostatočne vysoký a zároveň elektróda ešte nie je saturovaná skúmanou látkou.



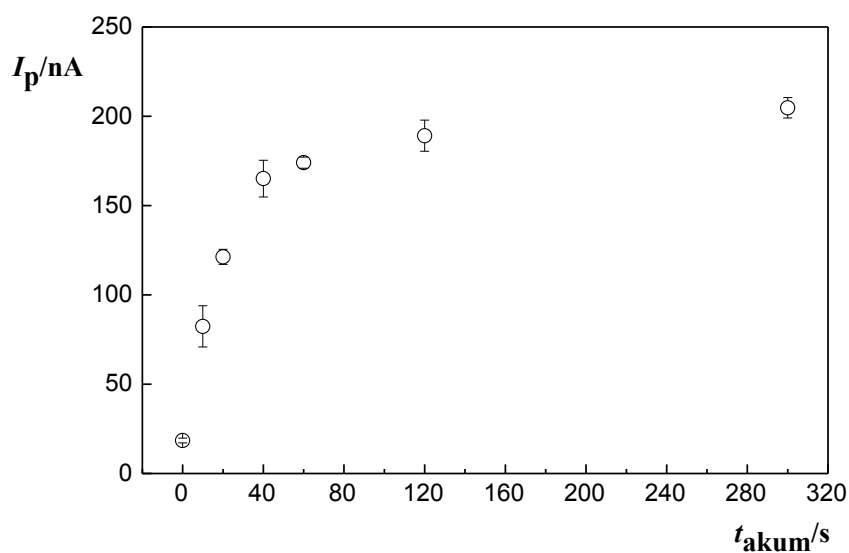
**Obr. 3.8** AdSDP voltampérogramy látky NM33 ( $c = 8,0 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) merané na GCE s akumuláciou v 10 ml zmesi BR pufru (pH 8,0) a DMSO (9:1, v/v) s časom akumulácie 60 s pri akumuláčnych potenciáloch  $-200$ ,  $-100$ ,  $0$ ,  $50$  a  $100$  mV. Červená krivka ZE zodpovedá základnému elektrolytu. Parametre DPV rovnaké ako pri **Obr. 3.1**.



**Obr. 3.9** Závislosť prúdu píku  $I_p$  látky NM33 ( $c = 8,0 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) na akumuláčnom potenciáli  $E_{\text{akum}}$  meraná metódou AdSDPV na GCE v zmesi BR pufru (pH 8,0) a DMSO (9:1, v/v) pri akumuláčnom čase 60 s. Parametre DPV rovnaké ako pri **Obr. 3.1**.



**Obr. 3.10** AdSDP voltampérogramy látky NM33 ( $c = 8,0 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) merané na GCE s akumuláciou v 10 ml zmesi BR pufru (pH 8,0) a DMSO (9:1, v/v) pri akumuláčnom potenciáli 50 mV s časom akumulácie 0, 10, 20, 40, 60, 120 a 300 s. Čierna krivka ZE zodpovedá základnému elektrolytu. Parametre DPV rovnaké ako pri **Obr. 3.1**.



**Obr. 3.11** Závislosť prúdu píku  $I_p$  látky NM33 ( $c = 8,0 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) na akumuláčnom čase  $t_{\text{akum}}$  meraná metódou AdSDPV na GCE v zmesi BR pufru (pH 8,0) a DMSO (9:1, v/v) pri akumuláčnom potenciáli 50 mV. Parametre DPV rovnaké ako pri **Obr. 3.1**.



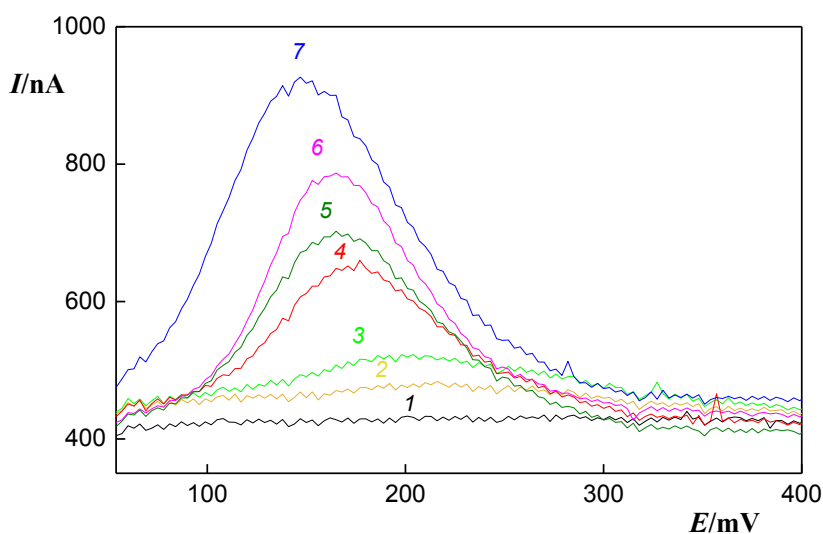
### 3.4 Koncentračné závislosti pre stanovenie látky NM33 metódou AdSDPV

Po zistení vhodných akumuláčnych podmienok na elektrochemickú detekciu látky NM33 metódou AdSDPV (akumulačný potenciál 50 mV a akumulačný čas 40 s) bola v zmesi BR pufru (pH 8,0) a DMSO (9:1, v/v) premeraná koncentračná závislosť v rozmedzí  $2 \cdot 10^{-7}$  až  $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ .

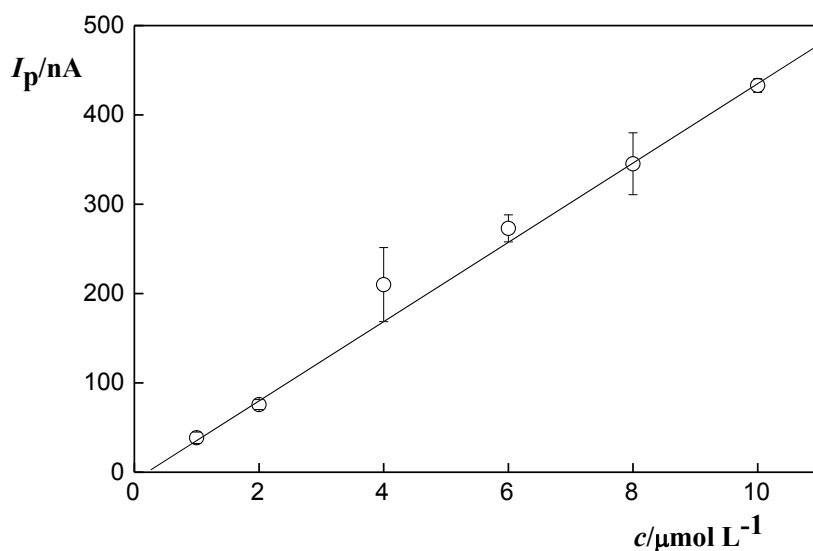
Voltampérogramy látky NM33 v rozmedzí koncentrácií  $1 \cdot 10^{-6}$  až  $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  sú uvedené na **Obr. 3.12**. So zvyšujúcou koncentráciou analytu pozorujeme posun potenciálov píkov k menej pozitívnym hodnotám. Pozorovaný posun môže súvisieť so zmenou pH v blízkosti elektródy v dôsledku spotreby protónov pri elektródovej reakcii, ktorá nie je kompenzovaná prívodom hydroxóniových iónov difúziou. Zvýšenie pH má za následok väčší stupeň disociácie fenolickej skupiny a v dôsledku toho ľahšiu oxidáciu záporne nabitých formy analytu. Kalibračná závislosť z výšok píkov pre uvedené koncentračné rozmedzie analytu je zobrazená na **Obr. 3.13**. Kalibračná závislosť má v tomto koncentračnom rozsahu lineárny charakter.

Voltampérogramy látky NM33 v rozmedzí koncentrácií  $2 \cdot 10^{-7}$  až  $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  sú uvedené na **Obr. 3.14**. Tu je pozorovaný posun potenciálov píkov podstatne menší v súlade s vyššie uvedeným vysvetlením. Kalibračná závislosť z výšok píkov pre uvedené koncentračné rozmedzie analytu je zobrazená na **Obr. 3.15**. Pri koncentráciách  $2 \cdot 10^{-7}$  a  $4 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  nebolo možné z voltampérogramu odčítať výšku píku. Spôsobilo to šumenie signálu základného elektrolytu, ktoré prekrylo signál skúmanej látky.

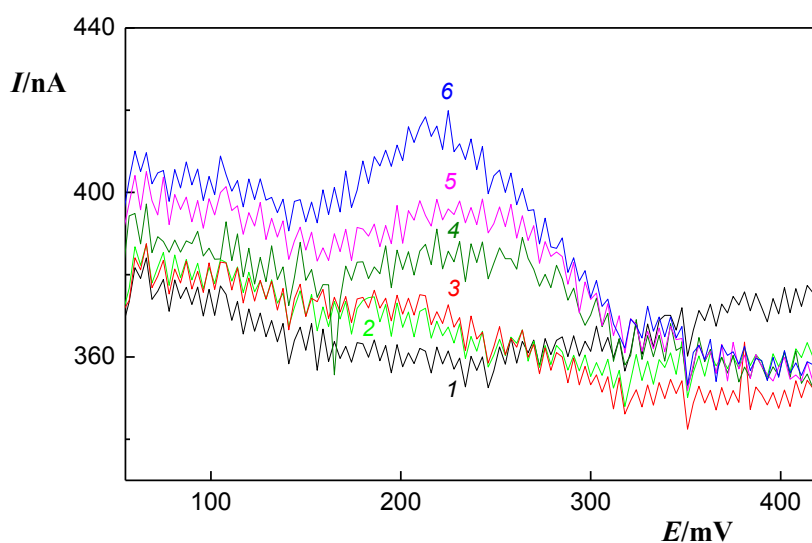
Vypočítaná hodnota limitu stanoviteľnosti (LOQ) bola  $2,7 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Z voltampérogramov vidíme, že najnižšia prakticky zmerateľná koncentrácia je  $6 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ .



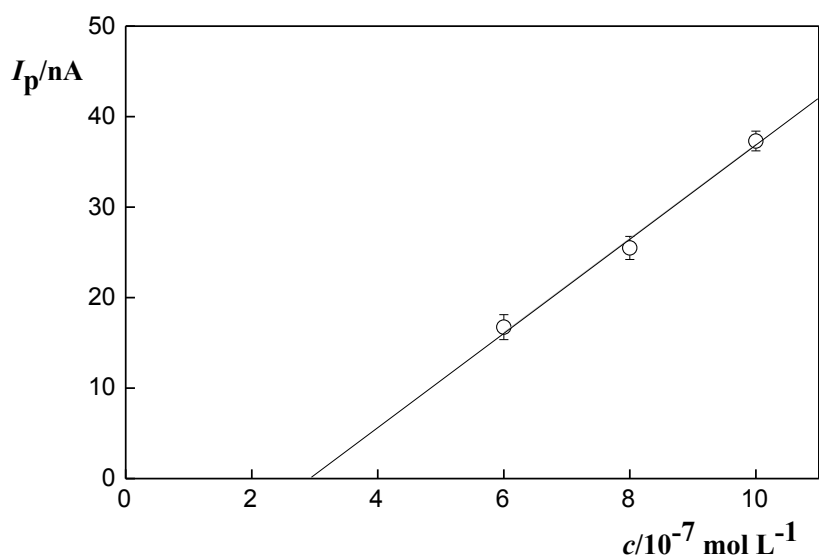
**Obr. 3.12** AdSDPV záznamy látky NM33 na GCE v zmesi 10 ml BR pufru (pH 8,0) a DMSO (9:1, v/v) pri koncentráciách NM33  $c = 0$  (1);  $1 \cdot 10^{-6}$  (2);  $2 \cdot 10^{-6}$  (3);  $4 \cdot 10^{-6}$  (4);  $6 \cdot 10^{-6}$  (5);  $8 \cdot 10^{-6}$  (6) a  $1 \cdot 10^{-5}$  (7)  $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Voltampérogramy boli merané pri akumuláčnom potenciáli 50 mV a akumuláčnom čase 40 s. Parametre DPV rovnaké ako pri **Obr. 3.1**.



**Obr. 3.13** Závislosť prúdu píku  $I_p$  na koncentrácii látky NM33 v rozmedzí  $1 \cdot 10^{-6}$  až  $1 \cdot 10^{-5}$   $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$  nameraná na GCE metódou AdSDPV s akumuláciou v zmesi BR pufru (pH 8,0) a DMSO (9:1, v/v). Koncentračná závislosť bola meraná pri akumuláčnom potenciáli 50 mV a akumuláčnom čase 40 s. Parametre DPV rovnaké ako pri **Obr. 3.1**.



**Obr. 3.14** AdSDP voltampérogramy látky NM33 merané na GCE s akumuláciou v 10 ml zmesi BR pufru (pH 8,0) a DMSO (9:1, v/v) pri koncentráciách NM33  $c = 0$  (1);  $2 \cdot 10^{-7}$  (2);  $4 \cdot 10^{-7}$  (3);  $6 \cdot 10^{-7}$  (4);  $8 \cdot 10^{-7}$  (5) a  $1 \cdot 10^{-6}$  (6)  $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Voltampérogramy boli merané pri akumuláčnom potenciáli 50 mV a akumuláčnom čase 40 s. Parametre DPV rovnaké ako pri **Obr. 3.1**.



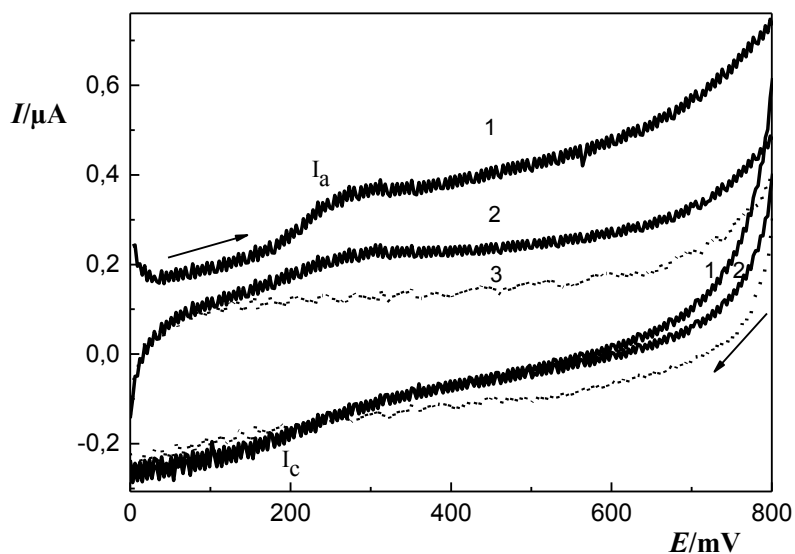
**Obr. 3.15** Závislosť prúdu píku  $I_p$  na koncentrácii látky NM33 v rozmedzí  $6 \cdot 10^{-7}$  až  $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  nameraná na GCE metódou AdSDPV v zmesi BR pufru (pH 8,0) a DMSO (9:1, v/v). Koncentračná závislosť bola meraná pri akumuláčnom potenciáli 50 mV a akumuláčnom čase 40 s. Parametre DPV rovnaké ako pri **Obr. 3.1**.

### 3.5 Skúmanie mechanizmu oxidácie látky NM33 pomocou cyklickej voltampérometrie

Mechanizmus oxidácie látky NM33 bol skúmaný metódou cyklickej voltampérometrie na GCE premeraním troch po sebe nasledujúcich cyklov pri rýchlosti polarizácie  $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . Meranie bolo uskutočnené v zmesi BR pufru a DMSO (9:1, v/v) pri pH 8,0, ktoré bolo v predchádzajúcich experimentoch určené ako optimálne na stanovenie analytu.

Na voltampérograme (**Obr. 3.16**) vidíme, že skúmaná látka poskytla anodický pík  $I_a$  v priamom smere pri potenciáli 273 mV. V spätnom smere bol pozorovaný malý katodický pík  $I_c$  pri potenciáli 154 mV. V druhom scane sa výška píku  $I_a$  zmenšila, výška píku  $I_c$  sa nezmenila. Tretí zaznamenaný scan bol rovnaký ako druhý, preto nie je v **Obr. 3.16** znázornený.

Na voltampérograme je zreteľný anodický pík  $I_a$  zodpovedajúci oxidácii hydroxylovej skupiny na naftalénovom jadre v molekule NM33. Keďže vo voltampérograme chýba zodpovedajúci redukčný pík, jedná sa o ireverzibilnú reakciu. Produkty vzniknuté pri tejto reakcii sú redukované pri nižšom potenciáli, čo znázorňuje pík  $I_c$  v spätnom smere scanu. Zmenšenie výšky píku  $I_a$  v druhom scane bolo pravdepodobne spôsobené pasiváciou povrchu elektródy.



**Obr. 3.16** Cyklický voltampérogram látky NM33 ( $c = 20 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) meraný na GCE v zmesi BR pufru (pH 8,0) a DMSO (9:1, v/v) pri rýchlosti polarizácie  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . Základný elektrolyt je znázornený bodkovanou krivkou (3), plnými čiarami sú znázornené prvý (1) a druhý (2) scan látky NM33. Šípky označujú začiatok a smer zmeny potenciálu.  $I_a$  predstavuje maximum krivky v priamom smere ( $I_a = 105,4 \text{ nA}$  pri  $E = 273 \text{ mV}$ ).  $I_c$  predstavuje maximum vlny v spätnom smere ( $I_c = -33,07 \text{ nA}$  pri  $E = 154 \text{ mV}$ ).

## 4 ZÁVER

V rámci tejto práce bolo preštudované voltampérometrické správanie *N*-[3,5-bis(trifluórmetyl)-fenyl]-1-hydroxynaftalén-2-karboxamidu na elektróde zo skleného uhlíka metódami diferenčnej pulznej voltampérometrie, cyklickej voltampérometrie a adsorptívnej rozpúšťacej diferenčnej pulznej voltampérometrie. Na elimináciu pasivácie GC elektródy bolo použité leštenie na časticách aluminy.

Všetky merania boli uskutočnené v prostredí zmesi Brittonovho-Robinsonovho pufru a dimetylsulfoxidu vo vzájomnom pomere 9:1 (v/v). Najskôr bolo voltampérometrické správanie analytu sledované v tomto prostredí v závislosti na pH. Za optimálne pH BR pufru bolo určené pH 8,0. Následne bola metódou DPV pri optimálnom pH premeraná kalibračná závislosť NM33 v koncentračnom rozmedzí  $2 \cdot 10^{-6}$  až  $1 \cdot 10^{-4}$  mol·l<sup>-1</sup>. Bolo dosiahnuté limitu stanoviteľnosti  $6 \cdot 10^{-6}$  mol·l<sup>-1</sup>.

Následne boli optimalizované podmienky pre stanovenie NM33 s adsorptívnou akumuláciou v rovnakom prostredí ako v predchádzajúcom prípade metódou diferenčnej pulznej voltametrie. Najskôr bol určený vhodný akumulčný čas  $t_{\text{akum}} = 40$  s a akumulčný potenciál  $E_{\text{akum}} = 50$  mV na stanovenie skúmanej látky. Následne boli pri týchto podmienkach zostrojené kalibračné závislosti v koncentračnom rozsahu  $2 \cdot 10^{-7}$  až  $1 \cdot 10^{-5}$  mol·l<sup>-1</sup>. Dosiahnutý limit stanoviteľnosti bol  $6 \cdot 10^{-7}$  mol·l<sup>-1</sup>. Ako vidíme, použitím akumulácie sa dosiahnutý limit stanoviteľnosti analytu zlepšil o jeden celý koncentračný rad.

## 5 LITERATÚRA

- [1] J. Gajdar, T. Gonec, J. Jampilek, Brazdova M., Babkova Z., Fojta M., J. Barek, J. Fischer, Voltammetry of a Novel Antimycobacterial Agent 1-Hydroxy-*N*-(4-nitrophenyl)naphthalene-2-carboxamide in a Single Drop of a Solution, *Electroanalysis* 30 (2018) 38–47, <https://doi.org/10.1002/elan.201700547>
- [2] J. Gajdar, K. Tsami, H. Michnova, T. Gonec, Brazdova M., Z. Soldanova, M. Fojta, J. Jampilek, J. Barek, J. Fischer, Electrochemistry of Ring-substituted 1-Hydroxynaphthalene-2-carboxanilides: Relation to Structure and Biological Activity, *Electrochimica Acta* 332 (2020) 135485, <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.135485>
- [3] T. Gonec, J. Kos, I. Zadrazilová, M. Pesko, S. Keltosova, J. Tengler, P. Bobal, P. Kollar, A. Cizek, K. Kralova, J. Jampilek, Antimycobacterial and Herbicidal Activity of Ring-substituted 1-Hydroxynaphthalene-2-carboxanilides, *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 21 (2013) 6531-6541, <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.08.030>
- [4] T. Gonec, S. Pospisilova, T. Kauerova, J. Kos, J. Dohanosova, M. Oravec, P. Kollar, A. Coffey, T. Liptaj, A. Cizek, J. Jampilek, *N*-Alkoxyphenylhydroxynaphthalenecarboxamides and Their Antimycobacterial Activity, *Molecules* 21 (2016) 1068, <https://doi.org/10.3390/molecules21081068>
- [5] T. Kauerová, J. Kos, T. Gonec, J. Jampilek, P. Kollar, Antiproliferative and Pro-Apoptotic Effect of Novel Nitro-Substituted Hydroxynaphthanilides on Human Cancer Cell Lines, *International Journal of Molecular Sciences* 17 (2016) 1219, <https://doi.org/10.3390/ijms17081219>
- [6] E. Spaczynska, A. Mrozek-Wilczkiewicz, K. Malarz, J. Kos, T. Gonec, M. Oravec, R. Gawecki, A. Bak, J. Dohanosova, I. Kapustikova, T. Liptaj, J. Jampilek, R. Musiol, Design and Synthesis of Anticancer 1-Hydroxynaphthalene-2-carboxanilides with a p53 Independent Mechanism of Action, *Scientific Reports* 9 (2019) 6387, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42595-y>
- [7] T. Kauerová, T. Gonec, J. Jampilek, S. Hafner, A.-K. Gaiser, T. Syrovets, R. Fedr, K. Souček, P. Kollar, Ring-Substituted 1-Hydroxynaphthalene-2-Carboxanilides Inhibit

Proliferation and Trigger Mitochondria-Mediated Apoptosis, International Journal of Molecular Sciences 21 (2020) 3416, <https://doi.org/10.3390/ijms21103416>

[8] H. Alemu, P. Wagana, P.F. Tseki, Voltammetric Determination of Niclosamide at a Glassy Carbon Electrode, Analyst (Cambridge, U.K.) 127 (2002) 129 – 134, <https://doi.org/10.1039/B105061N>

[9] T. A. Enache, A. M. Oliveira-Brett, Phenol and *para*-Substituted Phenols Electrochemical Oxidation Pathways, Journal of Electroanalytical Chemistry 655 (2011) 9 – 16, <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2011.02.022>

[10] M. Panizza, P.A. Michaud, G. Cerisola, C. Comninellis, Anodic Oxidation of 2-Naphtol at Boron-doped Diamond Electrodes, Journal of Electroanalytical Chemistry 507 (2001) 206 – 214 [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(01\)00398-9](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(01)00398-9)

[11] M. S. Ureta-Zanartu, P. Bustos, C. Berrios. M.C. Diez, M. L. Mora, C. Gutierrez, Electrooxidation of 2,4-Dichlorophenol and Other Polychlorinated Phenols at a Glassy Carbon Electrode, Electrochimica Acta 47 (2002) 2399 – 2406, [https://doi.org/10.1016/S0013-4686\(02\)00043-9](https://doi.org/10.1016/S0013-4686(02)00043-9)

[12] H. Alemu, N. M. Khoabane, P. F. Tseki, Electrochemical Oxidation of Niclosamide at a Glassy Carbon Electrode and its Determination by Voltammetry, Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia 17 (2003) 95 – 106, [10.4314/bcse.v17i1.61740](https://doi.org/10.4314/bcse.v17i1.61740)

[13] B. Uslu, S. A. Ozkan, Electroanalytical Application of Carbon Based Electrodes to the Pharmaceuticals, Analytical Letters 40 (2007) 817 – 853 <https://doi.org/10.1080/00032710701242121>

[14] R. L. McCreery, Advanced Carbon Electrode Materials for Molecular Electrochemistry, Chemical Reviews 108 (2008) 2646 – 2687 <https://doi.org/10.1021/cr068076m>

[15] H. E. Zittel, F. J. Miller, A Glassy-Carbon Electrode for Voltammetry. Analytical Chemistry 37 (1965) 200 – 203 <https://doi.org/10.1021/ac60221a006>

[16] N. Elgrishi, K. J. Rountree, B. D. McCarthy, E. S. Rountree, T. T. Eisenhart, J. L. Dempsey, A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry, Journal of Chemical Education 95 (2018) 197 – 206 <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00361>

[17] J. Wang, Analytical Electrochemistry, 3rd Ed. New York, Wiley 2006, 272 s. ISBN 978-0-471-67879-3



[18] J. Barek, F. Opekar, K. Štulík, Elektroanalytická chemie, Praha: Karolinum, 2005, 188 s. ISBN 80-246-1146-5

[19] I. Jakubis, Tenké vrstvy oxidu wolframového pro elektrochromní součásti (bakalárska práca), Brno, 2009, Vysoké učení technické v Brne, dostupné online: [https://www.vutbr.cz/www\\_base/zav\\_prace\\_soubor\\_verejne.php?file\\_id=18751](https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=18751)

[20] R. G. Compton, C. E. Banks, Understanding Voltammetry (Third Edition), New Jersey: World Scientific Europe Ltd, 2018, 456 s. ISBN 9781786345295

[21] F. Opekar, I. Jelínek, P. Rychlovský, Z. Plzák, Základní analytická chemie, Praha: Karolinum, 2007, 201 s. ISBN 978-80-246-0553-1