

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені ТАРАСА ШЕВЧЕНКА**

**БОЙКО МАРІЯ ЯРОСЛАВІВНА**

УДК 543.422.3:547.541.521:547.565.2

**МОНОАЗОБАРВНИКИ ТА ГЕТЕРОЦИКЛІЧНІ АЗОСПОЛУКИ  
ЯК АНАЛІТИЧНІ РЕАГЕНТИ ДЛЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОГО  
ВИЗНАЧЕННЯ СУЛЬФАНИЛАМІДІВ**

02.00.02 – аналітична хімія

**АВТОРЕФЕРАТ**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата хімічних наук

**Київ – 2013**

Дисертацією є рукопис

Робота виконана на кафедрі аналітичної хімії Львівського національного університету імені Івана Франка МОН України

**Науковий керівник:** кандидат хімічних наук, доцент  
**Врублевська Теодозія Ярославівна,**  
Львівський національний університет імені Івана Франка  
МОН України (м. Львів),  
доцент кафедри аналітичної хімії

**Офіційні опоненти:** доктор хімічних наук, професор  
**Блажеєвський Микола Євстахійович,**  
Національний фармацевтичний університет  
МОЗ України (м. Харків),  
професор кафедри фізичної та колоїдної хімії

кандидат хімічних наук, доцент  
**Тананайко Оксана Юріївна,**  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
МОН України (м. Київ),  
доцент кафедри аналітичної хімії

Захист відбудеться “ 10 ” червня 2013 р. о 14<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.001.03 Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України за адресою: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64/13, хімічний факультет, Велика хімічна аудиторія.

З дисертацією можна ознайомитися у науковій бібліотеці ім. М. Максимовича Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України (Київ, вул. Володимирська, 58, к. 12).

Автореферат розісланий “ 24 ” квітня 2013 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради  
доктор хімічних наук, професор



О.В. Іщенко

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Сульфаніламід (СА) – група хімічних речовин, похідних 4-амінобензолсульфонаміду, один з найстаріших класів синтетичних антибактеріальних засобів, які істотно вплинули на можливість успішного вирішення проблеми боротьби з багатьма інфекційними захворюваннями. Хоча СА, як бактеріостатики, поступаються протимікробною активністю антибіотикам, проте виявляють меншу побічну дію. Незважаючи на існування більш активних антибактеріальних препаратів, СА продовжують широко застосовувати у лікуванні інфекційних патологій. З метою підвищення ефективності лікарського засобу СА поєднують в одному препараті з іншими антибактеріальними субстанціями (вітамінами, кортикостероїдами, бактеріостатиками, антибіотиками пеніцилінового, тетрациклінового, аміноглікозидного, фторхінолонового рядів, макролідами). Контроль якості таких комбінованих препаратів вимагає застосування чутливих і селективних методів визначення вмісту СА в готових лікарських формах, а також їх залишкових кількостей у фізіологічних рідинах і тканинах.

Для оцінки якості сульфаніламідних препаратів використовують спектрофотометричні, електрохімічні, титриметричні, флюорометричні та хроматографічні методи. Спектрофотометрія – один із традиційних методів кількісного аналізу СА. Методики спектрофотометричного визначення СА можна розділити на три групи: визначення за власним поглинанням в УФ-ділянці спектра, за продуктами азосполучення діазосолей СА з органічними реагентами та прямої взаємодії СА з органічними речовинами різних класів. Проте більшість методик характеризуються низкою недоліків: аналітична реакція відбувається в жорстких умовах; важкодоступні реагенти доволі часто доводиться синтезувати; тривале нагрівання; використання токсичних органічних розчинників. Конкретизувати умови діазотування СА неможливо, оскільки описані в літературі дані є досить суперечливими, що ускладнює їх застосування.

У літературі практично немає відомостей про використання барвників для визначення СА, хоча ці речовини є широко вживаними реагентами в аналітичній хімії. Відомо лише про використання антрахінонового барвника алізарину та його похідних, з якими СА утворюють комплекси з перенесенням заряду, однак реакція, покладена в основу цієї методики характеризується низькими контрастністю та чутливістю. Одним з найбільших та найрізноманітніших класів барвників є азобарвники, які широко використовують в аналітичній хімії для визначення багатьох неорганічних речовин, зокрема металів, проте в аналізі органічних речовин їх застосування доволі обмежене. Дослідження взаємодії СА з барвниками різних класів, для яких характерна різна будова, наявність різних хромофорних систем дало б змогу вибрати найбільш ефективні аналітичні реагенти для визначення СА. Актуальність дослідження взаємодії СА з азореагентами (АР): моноазобарвниками та гетероциклічними азосполуками зумовлена необхідністю розробки нових експресних, селективних і доступних методик спектрофотометричного визначення СА в одно- та багатокомпонентних лікарських препаратах за присутності інших біологічно активних і допоміжних речовин.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконувалась на кафедрі аналітичної хімії Львівського національного універси-

тету імені Івана Франка згідно з науково-тематичними планами і державними бюджетними темами “Розроблення нових методів розділення, концентрування та визначення важких металів, фторидів, меркаптосполук у водах та технологічних розчинах”, державний реєстраційний номер 0108U004140 (2008–2009), “Методи пробопідготовки та аналізу із застосуванням природних адсорбентів вітчизняних родовищ”, державний реєстраційний номер 0110U001370 (2010–2012). Частина роботи виконувалась у лабораторії інструментальних методів контролю Державного науково-дослідного контрольного інституту (ДНДКІ) ветпрепаратів та кормових добавок згідно з державною бюджетною темою “Гармонізувати систему реєстрації нових ветеринарних препаратів, контролю їх залишків у продуктах тваринного походження та кормових добавок згідно до міжнародних вимог”, державний реєстраційний номер 0108 U005385 (2011–2014).

**Мета дослідження** – розроблення експресних, селективних і чутливих методик визначення СА із застосуванням моноазобарвників та гетероциклічних азосполук у комбінованих лікарських формах ветеринарних і фармацевтичних препаратів та біологічних зразках.

Для досягнення цієї мети необхідно було вирішити такі **завдання**:

- провести експериментальний пошук серед барвників різних класів таких, що взаємодіють з СА або діазосолями СА, вибрати для наступних досліджень ті, що утворюють забарвлені аналітичні форми;
- оптимізувати умови діазотування СА, з’ясувати умови максимального виходу забарвлених продуктів діазосолей СА з АР (вплив кислотності середовища, вплив природи та концентрації буферного розчину, вплив концентрації АР) та вивчити їх стабільність у часі;
- вивчити можливий вплив діючих і допоміжних речовин на процес взаємодії СА з АР;
- провести апробацію розроблених методик спектрофотометричного визначення СА з моноазобарвниками та гетероциклічними азосполуками при аналізі готових лікарських форм і біологічних зразків.

**Об’єкт дослідження:** забарвлені аналітичні форми СА з АР.

**Предмет дослідження:** закономірності взаємодії СА з моноазобарвниками та гетероциклічними азосполуками.

**Методи дослідження:** спектрофотометрія, вольтамперометрія, потенціометрія, високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ).

**Наукова новизна одержаних результатів.** У результаті дослідження хіміко-аналітичних властивостей СА запропоновано використання моноазобарвників тропеоліну О (ТрО), еріохромчорного Т (ЕЧТ), еріохромсиньо-чорного R (ЕСЧ R), еріохром синього SE (ЕС SE) та гетероциклічних азосполук 4-(2-піридилазо)резорцину (ПАР) та 4-(2-тіазолілазо)резорцину (ТАР) для спектрофотометричного визначення СА у комбінованих лікарських засобах (КЛЗ) без попереднього розділення складників препаратів. Вперше встановлено оптимальні умови взаємодії діазосолей СА з АР (кислотність середовища (для ТрО – рН 10,5, ПАР – рН 11,0, ТАР – рН 9,5, ЕЧТ та ЕСЧ R – рН 8,0, ЕС SE – рН 7,5), надлишок реагенту (для ТрО та ТАР – 1,5-кратний, для ПАР та ЕС SE –

2-кратний, для ЕЧТ та ЕСЧ R – 6-кратний), вплив природи та концентрації буферного розчину (для ТрО, ПАР, ТАР – 0,01 М розчин натрій тетрабарату, для ЕЧТ, ЕСЧ R, ЕС SE – 0,004 М розчин універсальної буферної суміші(УБС))) для отримання максимального аналітичного сигналу, що дало можливість одержати ефективні забарвлені аналітичні форми СА з АР, розрахувати їх спектрофотометричні характеристики ( $\lambda_{\max}$ ,  $\bar{\epsilon}_{\lambda}$ ) та розробити методики визначення цих біологічно активних речовин.

Запропоновано ряди чутливості визначення СА з АР залежно як від наявності та природи гетероциклічних замісників, так і від природи замісників у структурі моноазобарвників та гетероциклічних сполук. Встановлено, що найчутливішими є методики визначення з резорциновмісними АР тих СА, що містять п'ятичленні гетероцикли оксигену та сульфуру. При визначенні СА з *o,o'*-дигідроксизаміщеними азобарвниками найвища чутливість визначення характерна для тих СА, що містять у своїй структурі шестичленні піримідинові цикли з двома метокси- або метильними замісниками.

Встановлено високу селективність аналітичних реакцій СА з ТрО, ПАР і ТАР за наявності біологічно активних (триметоприму, енрофлоксацину, тилозину, бензилпеніциліну, стрептоміцину, гентаміцину) та допоміжних речовин (неорганічних та органічних солей натрію, кальцію, магнію, моно- та полісахаридів, багатоатомних спиртів, органічних кислот), що дало змогу розробити методики визначення СА у багатокомпонентних готових лікарських формах.

**Практична цінність одержаних результатів.** На підставі проведених експериментальних досліджень розроблено методики визначення СА з ТрО, ПАР, ТАР, ЕЧТ, ЕСЧ R, ЕС SE, що переважають відомі аналоги за селективністю (без розділення компонентів лікарських засобів) та еспресністю (30–40 хв) і співмірні за чутливістю з найчутливішими методиками спектрофотометричного визначення цих біологічно активних речовин. Показано можливість визначення СА з ТрО у готових лікарських формах (мазях, суспензіях, розчинах, таблетках і порошках) за присутності антибіотиків і бактеріостатиків. Новизна та оригінальність розробленої методики визначення СА з ТрО підтверджена патентом України на корисну модель “Спосіб спектрофотометричного визначення сульфаніламідів у фармацевтичних препаратах”. Окремі матеріали дисертаційної роботи впроваджені у лабораторний практикум дисципліни “Аналіз фармацевтичних препаратів” для магістрів хімічного факультету ЛНУ імені Івана Франка та навчально-методичне забезпечення дисциплін “Фізичні методи аналізу лікарських засобів”, “Хімія і технологія лікарських субстанцій”, “Контроль якості лікарських засобів”, “Фармацевтична хімія” для бакалаврів Інституту хімії та хімічної технології Національного університету «Львівська політехніка».

**Особистий внесок здобувача.** Пошук, систематизація та аналіз літературних відомостей, експериментальна робота, аналіз та інтерпретація одержаних результатів, їх виклад у формі наукових публікацій виконані дисертантом самостійно. Вибір тематики, окреслення мети та визначення завдань дослідження, планування експериментів та узагальнення одержаних результатів проведено спільно з науковим керівником доцентом кафедри аналітичної хімії, канд. хім. наук Т.Я. Врублевською. Підготовка біологічних зразків проведена спільно зі ст. наук. співроб. ДНДКІ ветпрепаратів та

кормових добавок Г.Ю.Тесляром. Співавторами спільних із дисертантом наукових публікацій були доцент кафедри аналітичної хімії, канд. хім. наук О.Я. Коркуна, яка брала участь у плануванні та підготовці частини досліджень, а також студенти, які виконували частину досліджень під час магістерських, дипломних і курсових робіт.

**Апробація результатів дисертації.** Результати роботи доповідалися та обговорювалися на 3<sup>rd</sup> EuCheMS Chemistry Congress “Chemistry – the Creative Force” (Nürnberg, Німеччина, 2010); Всеукраїнській конференції студентів та аспірантів “Хімічні каразінські читання – 2010” (Харків, 2010); науковій конференції, присвяченій 100-й річниці від дня народження професора І.В. Пятницького (Київ, 2010); XIII науковій конференції “Львівські хімічні читання” (Львів, 2011); сесії наукової ради НАН України з проблеми “Аналітична хімія” (Гурзуф, АР Крим, 2011); VI конференції молодих учених “Теоретическая и экспериментальная химия жидкофазных систем” (Іваново, Росія, 2011); шостій Всеукраїнській науковій конференції студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю “Хімічні проблеми сьогодення” (Донецьк, 2012); VI Всероссийской конференции по химии молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием “Менделеев-2012” (Санкт-Петербург, Росія, 2012); XIX международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых “Ломоносов” (Москва, Росія, 2012); тринадцятій Всеукраїнській конференції студентів та аспірантів “Сучасні проблеми хімії” (Київ, 2012); 4th EuCheMS Chemistry Congress (Прага, Чехія, 2012); III науковому семінарі студентів, аспірантів і молодих учених “Прикладні аспекти електрохімічного аналізу” (Львів, 2012); на звітних конференціях викладачів і співробітників Львівського національного університету ім. І. Франка (Львів, 2010, 2011).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 7 статей у наукових фахових журналах, 14 тез доповідей у збірниках матеріалів наукових конференцій та отримано один патент України.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, п'яти розділів, висновків, списку використаних джерел, що налічує 394 найменування і 4 додатків. Дисертація містить 35 таблиць і 53 рисунки. Загальний обсяг роботи викладений на 210 сторінках.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми дисертаційної роботи, сформульовано мету та окреслено основні завдання дослідження, показано новизну та практичну значущість отриманих результатів.

У **першому розділі** проаналізовано літературні відомості про фармакологічні властивості сульфаніламідних препаратів. Описано хіміко-аналітичні властивості цих біологічно активних речовин, що зумовлені наявністю в їх структурі різних функціонально-аналітичних груп. Серед них для досліджень вибрано десять найпоширеніших у лікарській практиці сполук, які відрізняються між собою замісниками у сульфамідній групі – містять п'ятичленні гетероцикли кисню (сульфаметоксазол (СМО)) та сульфур (сульфатіазол (СТЗ)), шестичленні гетероцикли нітрогену

(сульфаметазин (СМГ), сульамеразин (СМР), сульфадиметоксин (СДМ), сульфадіазин (СДА), сульфаметоксипіридазин (СМП), сульфамонетоксин (СММ)), гуанідин (сульфагуанідин (СГН)) і не містять замісників (сульфаніламід (САМ)). Наведено відомості про основні методи визначення СА та детально проаналізовано і систематизовано відомі методики спектрофотометричного їх визначення. Проаналізовано форми існування ТрО, ПАР, ТАР, що містять у своїй молекулі резорцинове угруповання (з двома гідроксигрупами) та *o,o'*-дигідроксизаміщених азобарвників ЕЧТ, ЕСЧР і ЕССЕ у водних розчинах. Показано практичне застосування зазначених АР в аналітичній хімії і спектрофотометрії зокрема, а також їх перспективність для отримання аналітичних форм з метою спектрофотометричного визначення СА.

У **другому розділі** описано методики приготування та стандартизації розчинів, а також охарактеризовано обладнання, що використовувалось для досліджень. Описані умови, етапи і методи експериментальних досліджень. Ідентифікацію СА проводили спектрофотометрично (за власним світлопоглинанням при 250–280 нм), а концентрацію встановлювали нітритометрично. Точну концентрацію розчинів АР визначали спектрофотометрично за відомими значеннями молярних коефіцієнтів світлопоглинання сполук.

У **третьому розділі** представлено результати експериментальних спектрофотометричних досліджень взаємодії СА та їх діазосолей з азо-, трифенілметановими, ксантоновими та діазиновими барвниками. Серед них вибрано моноазобарвники ТрО, ЕЧТ, ЕСЧР та ЕССЕ та гетероциклічні азосполуки ПАР, ТАР, з якими діазосоли СА утворюють забарвлені аналітичні форми. При взаємодії діазосолей СА з ТрО, ПАР та ТАР на електронних спектрах поглинання (ЕСП) продуктів, порівняно зі спектром реагенту, з'являються нові максимуми світлопоглинання за  $\lambda_{\max}=590\text{--}620$  нм (рис. 1), при взаємодії з ЕЧТ (рис. 2) та ЕСЧР – за  $\lambda_{\max}=485$  нм, а при взаємодії з ЕССЕ – широке плече за  $\lambda=340\text{--}400$  нм. Для наступних досліджень були використані спектральні ділянки, на яких спостерігається максимальна різниця оптичних густин реагентів і продуктів.

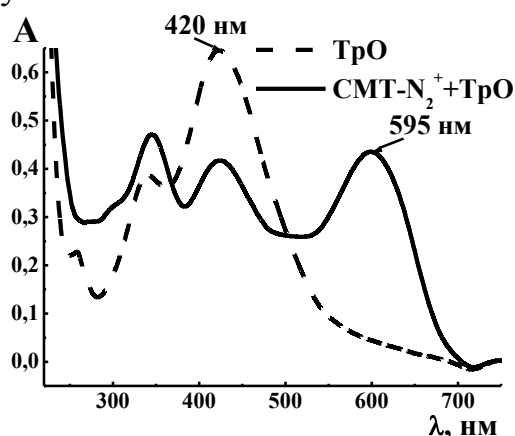


Рис. 1. ЕСП розчинів ТрО та продуктів його взаємодії з діазосолями СА.  $C_{\text{HCl}}=0,5\text{M}$ ,  $C_{\text{CA}}=1,5\cdot 10^{-5}\text{M}$ ,  $C_{\text{NaNO}_2}=2,5\cdot 10^{-4}\text{M}$ ,  $C_{\text{TrO}}=2,5\cdot 10^{-5}\text{M}$ ,  $C_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7}=0,01\text{M}$ ,  $\text{pH}=10,5$

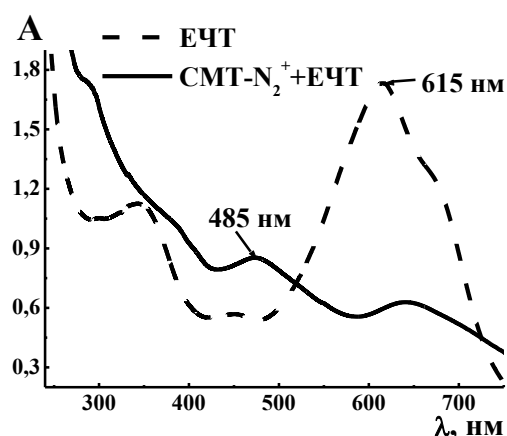


Рис. 2. ЕСП розчинів ЕЧТ та продуктів його взаємодії з діазосолями СА.  $C_{\text{HCl}}=1,0\text{M}$ ,  $C_{\text{CA}}=6,0\cdot 10^{-5}\text{M}$ ,  $C_{\text{NaNO}_2}=8,0\cdot 10^{-4}\text{M}$ ,  $C_{\text{Сечов.}}=4,0\cdot 10^{-2}\text{M}$ ,  $C_{\text{ECT}}=3,6\cdot 10^{-4}\text{M}$ ,  $C_{\text{УБС}}=4,0\cdot 10^{-3}\text{M}$ ,  $\text{pH}=8,0$

Оскільки літературні відомості щодо умов діазотування СА досить суперечливі, експериментальним шляхом оптимізовано умови їх діазотування (табл. 1).

Досліджено умови максимального виходу забарвлених сполук діазосолей СА з АР. Інтенсивність світлопоглинання продуктів взаємодії діазосолей СА з ТрО, ПАР, ТАР набуває максимальних значень у лужному середовищі в межах рН 9,0–11,5 при виборі ристанні натрій тетраборату як буферного розчину. Для продуктів взаємодії діазосолей СА з ЕЧТ, ЕСЧ R, ЕС SE максимальна інтенсивність світлопоглинання спостерігається у слаболужному середовищі в межах рН від 5,5 до 10,0 за присутності УБС (рис. 3).

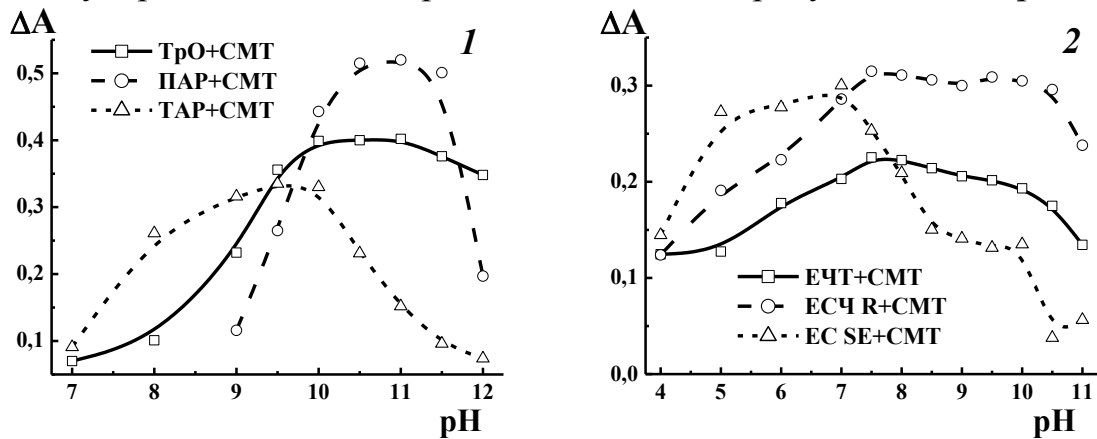


Рис. 3. Вплив кислотності середовища на азосполучення діазосолей СА з ТрО, ПАР, ТАР (1) та ЕЧТ, ЕСЧ R, ЕС SE (2) в оптимальних умовах взаємодії

У табл. 1 підсумовано умови максимального виходу забарвлених сполук СА з АР та їх спектрофотометричні характеристики.

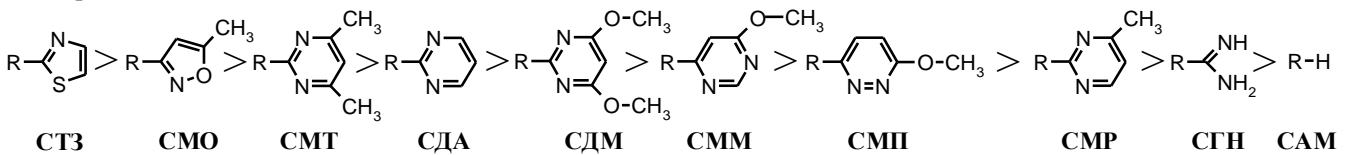
Таблиця 1

Оптимальні умови одержання забарвлених сполук СА з АР та їх спектрофотометричні характеристики

Умови	СА+ТрО	СА+ПАР	СА+ТАР	СА+ЕЧТ	СА+ЕСЧ R	СА+ЕС SE
Діазотування						
Концентрація HCl	0,5 моль/л			1,0 моль/л		
Концентрація NaNO <sub>2</sub>	>10-кратний надлишок до концентрації СА			>3-кратний надлишок до концентрації СА		
Тривалість реакції	20 хв при 20°C (10 хв за 0°C)					
Концентрація сечовини	—			>50-кратний надлишок до NaNO <sub>2</sub>		
Тривалість реакції				10 хв за 20°C		
Азосполучення						
Надлишок азореагенту	1,5-кратний	2-кратний	1,5-кратний	6-кратний	6-кратний	2-кратний
Концентрація буферного розчину	0,01 М моль/л розчин натрій тетраборату			0,004 М моль/л розчин УБС		
рН	10,5	11,0	9,5	8,0	8,0	7,5
Послідовність додавання реагентів	[СА <sub>діаз</sub> (HCl + СА + NaNO <sub>2</sub> ) <sub>20 хв</sub> + (Сечовина) <sub>10 хв</sub> + АР + Буферний розчин + NaOH] → рН					
Характеристика продуктів взаємодії СА з АР						
Стабільність забарвлених продуктів	3 год	2 год	1 год	20 хв		
$\lambda_{\max}$	595 нм	590 нм	615 нм	485 нм	485 нм	380 нм
$\bar{\epsilon}_{\lambda} \times 10^4, \text{ л моль}^{-1} \text{ см}^{-1}$	(2,0-3,1) · 10 <sup>4</sup>	(0,9-2,3) · 10 <sup>4</sup>	(0,5-2,0) · 10 <sup>4</sup>	(1,6-4,8) · 10 <sup>3</sup>	(1,1-2,3) · 10 <sup>3</sup>	(0,6-1,1) · 10 <sup>3</sup>

Значення ефективних молярних коефіцієнтів світлопоглинання продуктів взаємодії СА з АР свідчать про те, що чутливість визначення СА зменшується в ряду з  $\text{TrO} > \text{ПАР} > \text{ТАР} > \text{ЕЧТ} > \text{ЕСЧР} > \text{ЕС SE}$ . Крім того, на чутливість визначення СА впливають природа і наявність замісника у його молекулі. Ці залежності корелюють між собою в групах реагентів  $\text{TrO}$ – $\text{ПАР}$ – $\text{ТАР}$  і  $\text{ЕЧТ}$ – $\text{ЕСЧР}$ – $\text{ЕС SE}$ . При визначенні СА з резорциновмісними АР ( $\text{TrO}$ ,  $\text{ПАР}$ ,  $\text{ТАР}$ ) найвищою чутливістю характеризуються ті СА, які містять у своїй структурі п'ятичленні гетероцикли з двома різними гетероатомами – СТЗ та СМО, а при взаємодії СА з *o,o'*-дигідроксизаміщеними азобарвниками – СА з шестичленними нітрогеновмісними гетероциклами та двома замісниками (СДМ та СМТ), найменшою – СА та СГН, які не містять гетероциклів (рис. 4).

СА+TrO



СА+ЕЧТ

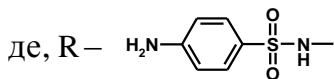
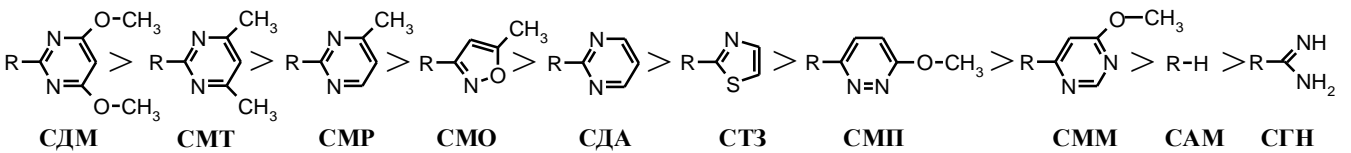


Рис. 4. Ряди чутливості визначення СА з реагентами  $\text{TrO}$  та  $\text{ЕЧТ}$

У **четвертому розділі** описані результати дослідження хімізму взаємодії СА з АР різними методами: спектрофотометрії, вольтамперометрії та потенціометрії.

Встановлено, що при взаємодії СА з *o,o'*-дигідроксизаміщеними азобарвниками з реакційного середовища необхідно усувати непрореаговані нітрит-іони, і навпаки, при взаємодії з резорциновмісними АР необхідно використовувати вище ніж 10-кратні їхні надлишки (див. табл. 1). Тому, було досліджено спектральні характеристики продуктів взаємодії діазосолей СА з резорциновмісними АР за відсутності надлишку нітрит-іонів у реакційному середовищі, який усували дією 50-кратного надлишку сечовини. Результати досліджень (рис. 5) свідчать про те, що нітрит-іони впливають на самі АР, що підтверджується зменшенням оптичної густини максимуму світлопоглинання, характерного для кожного АР, та появою додаткового максимуму світлопоглинання на спектрі при 340 нм. На ЕСП продуктів реакції АР з діазосолями СА за відсутності надлишку нітриту спостерігається зменшення максимумів за довжин хвиль 590–620 нм та 340 нм (рис.5). Очевидно, під впливом нітрит-іонів у молекулу як АР, так і забарвлених продуктів СА з АР вводиться замісник – нітрозогрупа, яка бере участь у розподілі електронної густини і підсилює світлопоглинання продуктів їх взаємодії з діазосолями СА, тобто відіграє роль ауксохром.

Спектрофотометричними дослідженнями встановлено, що нітрит-іони та діазосолі СА впливають на *o,o'*-дигідроксизаміщені азобарвники подібно: під їх дією зменшується максимум світлопоглинання самого барвника – руйнується його хромофорна система, тобто азогрупа. Однак спостерігається також відмінність у дії нітрит-іонів і діазосолей

СА: при взаємодії ЕЧТ та ЕСЧР з діазосолями СА з'являється новий максимум світлопоглинання за 465–485 нм. Внаслідок руйнування азогрупи ЕЧТ можливе утворення  $\alpha$ -нафтолу та заміщеного  $\beta$ -нафтолу, який містить сульфо- та нітрогрупи, ЕСЧР – двох  $\beta$ -нафтолів, один з яких містить сульфогрупу, а ЕС SE – *n*-хлорфенолу та хромотропової кислоти. Наявність нітрогрупи та хлору в частинках дезактивує їх як азоскладові, тому з електрофільними сполуками можуть взаємодіяти лише незаміщені  $\alpha$ -нафтол,  $\beta$ -нафтол і хромотропова кислота.

Була перевірена можливість хімічної взаємодії діазосолі СМТ з нафтолами та хромотроповою кислотою. Встановлено, що за умов її взаємодії з азобарвниками (на прикладі ЕСЧР) (рис. 6) ці сполуки вступають у реакцію азосполучення з діазосіллю СМТ, а утворений продукт СМТ з  $\alpha$ -нафтолом характеризується максимумом світлопоглинання при 465 нм, з  $\beta$ -нафтолом – 485 нм, а з хромотроповою кислотою – 510 нм і широким плечем світлопоглинання на спектрі в межах довжин хвиль 360–410 нм. Експериментально підтверджено відсутність взаємодії діазосолей СА з *n*-хлорфенолом.

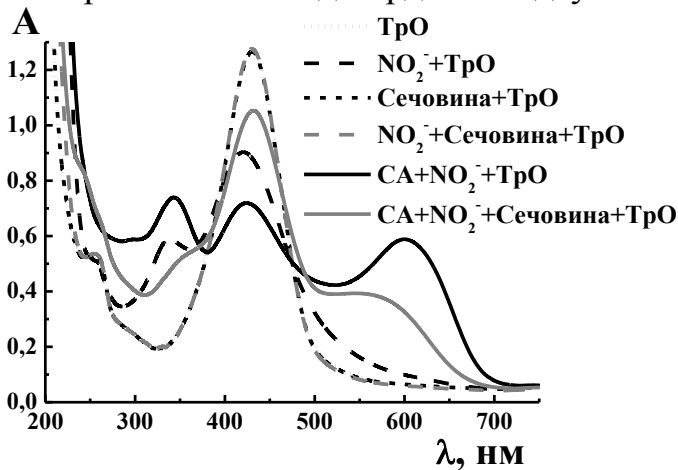


Рис. 5. ЕСП розчинів АР і продуктів їх взаємодії з діазосіллю СМТ, отриманих без руйнування та після руйнування надлишку нітрит-іонів сечовиною:  $C_{\text{HCl}}=0,5 \text{ M}$ ,  $C_{\text{СА}}=1,5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $C_{\text{NaNO}_2}=2,5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ,  $C_{\text{Сечов.}}=4,0 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ ,  $C_{\text{TrO}}=2,5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $C_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7}=0,01 \text{ M}$ ,  $\text{pH}=10,5$

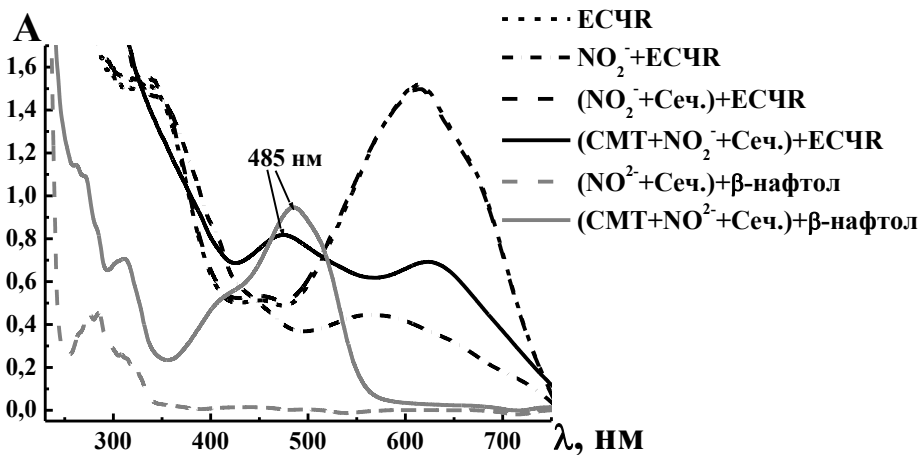


Рис. 6. ЕСП розчинів ЕСЧР,  $\beta$ -нафтолу та продуктів їх взаємодії з діазосолями СА:  $C_{\text{HCl}}=1,0 \text{ M}$ ,  $C_{\text{СА}}=6 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $C_{\text{NaNO}_2}=8,0 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ,  $C_{\text{Сечов.}}=4,0 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ ,  $C_{\text{ЕСЧР}}=3,6 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ,  $C_{\alpha\text{-нафтол}}=1,2 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ,  $C_{\text{УБС}}=4 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ ,  $\text{pH} 8,0$

Отже, максимуми світлопоглинання, що спостерігаються на ЕСП продуктів взаємодії СА з ЕЧТ та ЕСЧР за 465–485 нм, є максимумами поглинання сполук  $\alpha$ - та  $\beta$ -нафтолів з діазосіллю СМТ. При взаємодії ЕС SE з діазосолями СА плече світлопоглинання на ЕСП продуктів, зумовлене поглинанням продукту взаємодії діазосолі СМТ з хромотроповою кислотою. Таким чином, частина діазосолі СА витрачається на окиснення азогрупи барвника, а частина – на утворення нових азосполук з продуктами окисно-відновної реакції, однак за однакових умов реакції їх частки в обох процесах залишаються постійними.

Потенціометричним титруванням розчинів діазосолей СМТ розчинами АР підтверджено відсутність редокс-процесу при взаємодії діазосолей СА з ТрО, ПАР і ТАР та окисно-відновну взаємодію діазосолей СА з ЕЧТ, ЕСЧР і ЕССЕ. При титруванні діазосолей СМТ розчинами резорциновмісних АР стрибок титрування не спостерігався, а потенціал системи змінювався несуттєво  $\Delta E \approx 20-30$  мВ (рис. 7 (1)). Натомість при титруванні діазосолей СМТ розчинами *o,o'*-дигідроксизаміщених азобарвників спостерігається стрибок титрування, тобто різке зниження потенціалу системи після додавання азобарвника (найбільший для ЕЧТ –  $\Delta E = 223$  мВ) (рис. 7 (2)), що дає підстави стверджувати про окисно-відновну реакцію діазосолей СМТ з ЕЧТ, ЕСЧР і ЕССЕ.

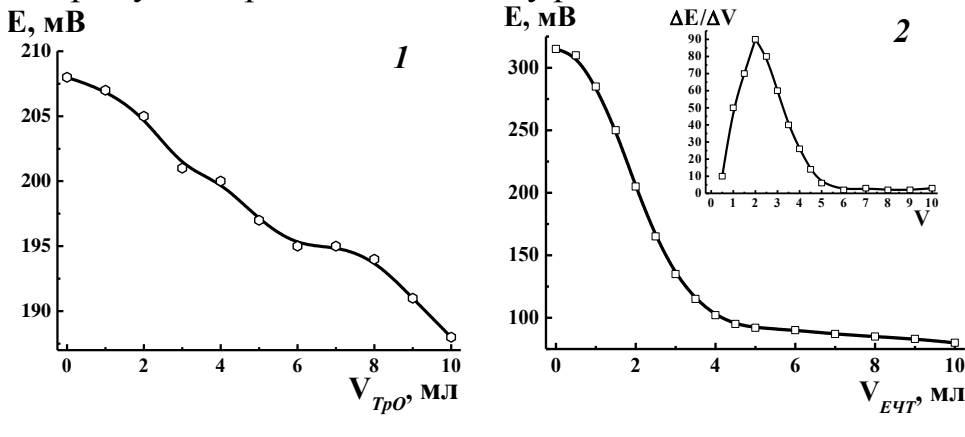


Рис. 7. Потенціометричні криві окисно-відновного титрування діазосолей СМТ розчинами ТрО (1) та ЕЧТ (2).  
 $C_{CA} = 6,0 \cdot 10^{-5}$  М,  
 $C_{NaNO_2} = 8,0 \cdot 10^{-4}$  М,  
 $C_{Сечов.} = 4,0 \cdot 10^{-2}$  М,  
 $C_{АР} = 3,6 \cdot 10^{-4}$  М

Вольтамперометричні дослідження підтвердили результати отримані спектрофотометрично. За наявності надлишку нітрит-іонів на полярограмі відновлення АР спостерігаються два піки: за  $\sim -0,90$  В – характерний для відновлення азогрупи і за  $\sim -0,40$  В, що відповідає відновленню нітрозогрупи введеної у бензенове кільце під дією нітрит-іонів, оскільки самі нітрит-іони не є полярографічно активними за умов експерименту. На полярограмах відновлення аналітичних форм спостерігаються два піки: за  $-0,89$  В та  $-1,03$  В, – що свідчить про відновлення двох азогруп: азогрупи барвника і новоутвореної, внаслідок реакції азосполучення діазосолей СА з резорциновою групою АР. За  $\sim -0,40$  В спостерігається пік відновлення нітрозогрупи, яка також вводить у продукт під дією надлишку нітрит-іонів (рис. 8(1)).

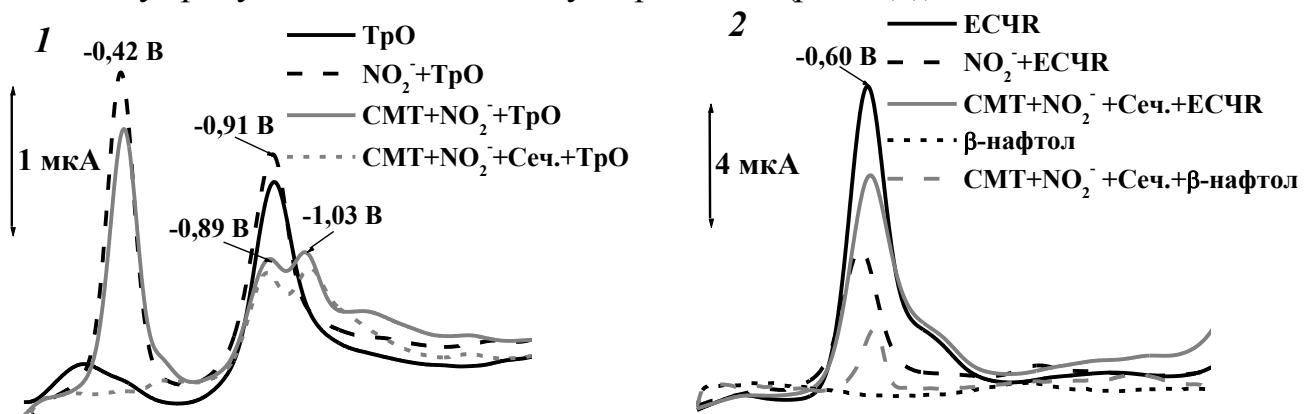


Рис. 8. Вольтамперограми процесів відновлення ТрО (1) та ЕСЧР (2) у різних системах в оптимальних умовах взаємодії

На вольтамперограмі ЕСЧР спостерігається пік відновлення азогрупи – за  $\sim -0,60$  В (рис. 8 (2)), яка під дією нітрит-іонів та під дією діазосолей СА руйнується, тому сила струму його відновлення зменшується. На вольтамперограмі продукту



У п'ятому розділі описані розроблені методики спектрофотометричного визначення СА з АР, наведено їх метрологічні характеристики та результати вивчення селективності взаємодії СА з реагентами за присутності біологічно активних речовин різної природи та допоміжних речовин, які використовують для виготовлення лікарських форм. Представлено результати апробації методик визначення СА у складних об'єктах способом порівняння.

Розроблені методики спектрофотометричного визначення СА з АР характеризуються широкими межами лінійності – до півтора порядку концентрації аналіту, високою відтворюваністю, а за чутливістю ці методики не поступаються найчутливішим спектрофотометричним методиками. Найчутливіша методика з використанням ТрО дає змогу визначати СА з концентрацією від 0,4 мкг/мл (табл. 2).

Таблиця 2

Метрологічні характеристики спектрофотометричного визначення СА з АР; n=5, P=0,95

АР	Лінійність $C_{СМТ}$ , мкг/мл	Рівняння графіка, $C_{СМТ}$ , мкг/мл	$C_{мін}$ мкг/мл	$C_{н}$ , мкг/мл	R
ТрО	0,4 – 10,0	$\Delta A = 0,009 + 0,098 \cdot C$	0,14	0,42	0,9998
ПАР	0,4 – 14,0	$\Delta A = 0,008 + 0,072 \cdot C$	0,15	0,45	0,9998
ТАР	1,0 – 24,0	$\Delta A = 0,021 + 0,039 \cdot C$	0,38	1,27	0,9999
ЕЧТ	3,0 – 48,0	$\Delta A = 0,017 + 0,018 \cdot C$	1,14	3,42	0,9995
ЕСЧР	7,0 – 64,0	$\Delta A = 0,014 + 0,012 \cdot C$	2,51	7,54	0,9990
ЕС SE	14,0 – 80,0	$\Delta A = 0,009 + 0,006 \cdot C$	4,96	14,9	0,9995

Досліджено вибірковість розроблених методик визначення СА з АР за наявності біологічно активних (вітамінів, кортикостероїдів, бактеріостатиків, антибіотиків пеніцилінового, тетрациклінового, аміноглікозидного, фторхінолонового рядів та макролідів) (табл. 3) і допоміжних (неорганічних та органічних солей натрію, кальцію, магнію, моно- та полісахаридів, багатоатомних спиртів, органічних кислот) речовин.

Таблиця 3

Вплив біологічно активних речовин на спектрофотометричне визначення СА з АР

Діюча речовина (ДР)	$m(СА) : m(ДР)^*$	$m(СА) : m(ДР)^{**}$					
		Тр О	ПАР	ТАР	ЕЧТ	ЕСЧР	ЕС SE
Триметоприм	1:0,2	1:50	1:10	1:10	1:5	1:5	1:2
Гентаміцин	1:0,4	1:10	1:5	1:10	заважає визначенню		
Енрофлоксацин	1:0,25	1:25	1:25	1:50	заважає визначенню		
Бензилпеніцилін	1:0,17	1:10	1:10	1:10	1:10	1:5	1:5
Стрептоміцин	1:0,37	1:5	1:2	1:2	1:5	1:5	1:5
Тетрациклін	1:0,55	1:0,75	заважає визначенню				
Окситетрациклін	1:0,27	1:0,5	заважає визначенню				
Преднізолон	1:0,01	1:2	1:1	1:2	1:1	1:1	1:0,1
Тилозин	1:0,25	1:25	1:5	1:25	заважає визначенню		
Ретинол ацетат	1:0,06	1:0,1	1:0,1	заважає визначенню			
Бромгексин	1:0,007	1:2	1:1	1:0,5	заважає визначенню		
Ксероформ	1:1	1:5	1:1	1:2	заважає визначенню		
Йодоформ	1:2	1:10	1:25	1:2	1:5	1:10	1:5

\* – масові співвідношення СА та ДР у досліджуваних лікарських препаратах;

\*\* – встановлені нами максимальні масові співвідношення СА та ДР, що не заважають визначенню

Встановлено, що допоміжні речовини в тих кількостях, в яких вони містяться у препаратах, не впливають на взаємодію СА з АР. За винятком взаємодії з ТрО, вибірковість досліджуваних реакцій за наявності діючих речовин значно нижча: при взаємодії СА з ПАР і ТАР заважають антибіотики тетрациклінового ряду, а крім того, визначенню СА з ТАР заважає ретинол ацетат. Розроблені методики з використанням ЕЧТ, ЕСЧР, ЕССЕ можна застосовувати для аналізу готових лікарських форм тих препаратів, які містять триметоприм, бензилпеніцилін, стрептоміцин, преднізолон та йодоформ.

Розроблені методики спектрофотометричного визначення СА з ТрО, ПАР, ТАР, ЕЧТ, ЕСЧР та ЕССЕ успішно використані для встановлення вмісту СА в одно- та багатокомпонентних препаратах різних лікарських форм. Результати визначення вмісту СА у лікарських засобах наведені в табл. 4, 5.

Таблиця 4

Результати спектрофотометричного визначення СА з АР у багатокомпонентних препаратах;  $n=5$ ,  $P=0,95$

Визначуваний сульфаніламід (регламентований вміст у препараті)	Встановлений вміст $\bar{x} \pm \Delta x$ ( $S_r$ )			
	ВЕРХ згідно з ТД	спектрофотометрично з ТрО	спектрофотометрично з ПАР	спектрофотометрично з ТАР
“Тромексин” розчин, INVESA, Іспанія ( <i>триметоприм (60 мг/мл), тетрациклін (110 мг/мл), бромгексин (1,3 мг/мл)</i> )				
Сульфаметоксипіридазин (200±20 мг/мл)	204±6 (0,029)	208±7 (0,030)	методика не дозволяє визначити СА	
“Трицилін” порошок, НУ НВФ “Бровафарма” ( <i>бензилпеніцилін (0,24 г/фл), стрептоміцин (0,67 г/фл)</i> )				
Сульфаніламід (5,0±0,5 г/фл.)	5,11±0,14 (0,023)	5,09±0,13 (0,022)	5,10±0,16 (0,026)	5,11±0,15 (0,026)

Таблиця 5

Результати спектрофотометричного визначення СА з *o,o'*-дигідроксизаміщеними азобарвниками у двокомпонентних лікарських препаратах;  $n=5$ ,  $P=0,95$

Визначуваний сульфаніламід (регламентований вміст у препараті)	Встановлений вміст $\bar{x} \pm \Delta x$ ( $S_r$ )			
	екстракційно-фотометрично згідно з ТД	спектрофотометрично з ЕЧТ	спектрофотометрично з ЕСЧР	спектрофотометрично з ЕССЕ
“Тримератинвет” порошок, ТзОВ “Ветсинтез” ( <i>триметоприм (20 мг/г)</i> )				
Сульфаметазин (100±10 мг/г)	100±2 (0,017)	98±3 (0,026)	101±2 (0,017)	101±3 (0,026)
“Суметролім” таблетки, EGIS, Угорщина ( <i>триметоприм (80 мг/табл)</i> )				
Сульфаметоксазол (400±40 мг/табл)	396±12 (0,026)	398±14 (0,030)	400±15 (0,032)	395±14 (0,031)

З табл. 4 видно, що визначення вмісту СА з ТрО є селективним і дає змогу визначати вміст СА у три- та чотирикомпонентних препаратах без попереднього розділення. Розроблені методики визначення СА з *o,o'*-дигідроксизаміщеними азобарвниками (табл. 5) дозволяють визначати СА в одно- та двокомпонентних препаратах за наявності

триметоприму. Одержані результати визначення вмісту СА з АР у лікарських засобах добре корелюють з результатами, отриманими згідно з технічною документацією (ТД) виробника (за методиками нітритометричного титрування, екстракційно-фотометричного та хроматографічного визначення) зазначених препаратів. Значення  $S_r$  не перевищують значень похибок у спектофотометрії.

Для підтвердження придатності розроблених методик проведено валідацію та обчислено валідаційні критерії визначення СМТ з ТрО у суспензії “Мастисан-А-Форте”, який містить сульфаметазин (100 мг), бензилпеніцилін (186 мг), стрептоміцин (86 мг), преднізолон (4,9 мг). Обчислені значення відносного довірчого інтервалу та систематичної похибки визначення СМТ у препараті є меншими за максимально допустиме значення цих параметрів, згідно з валідаційними критеріями, отже, розроблена методика визначення СМТ у препараті відповідає критеріям лінійності, правильності та прецизійності.

Таблиця 6

Критерії лінійності і параметри лінійної залежності, критерії правильності і прецизійності та їх значення обчислені при визначенні СМТ з ТрО у препараті “Мастисан-А-Форте”.

Параметр	Значення	Критерії	Висновок
<i>Перевірка лінійності</i>			
$b$	1,004	–	
$S_b$	0,010	–	
$a$	-0,444	1) $\leq  1,876 $ 2) $\leq  2,560 $	Витримуються
$S_a$	0,990	–	
$S_D/b$	0,350	$\leq  0,845 $	Витримуються
$r$	0,9995	$\leq  0,9982 $	Витримуються
<i>Перевірка правильності та прецизійності</i>			
Середнє значення знайденого вмісту $\bar{D}$			99,93
Відносне стандартне відхилення $S_D, \%$			0,352
Критичне значення одностороннього довірчого інтервалу, $\Delta x = 0,654$		$\Delta x \leq 1,6\%$	Витримуються
Критерій незначущості систематичної похибки, $\delta = 0,07\%$		1. $\delta \leq 0,218\%$ 2. $\delta \leq 0,512\%$	Витримуються
Загальний висновок щодо методики			Коректна

“–” не зазначають критерій для відповідного параметра.

Розроблена методика визначення СА з АР застосована для аналітичного контролю сульфатіазолу у сироватці крові людини. Попередньо було підібрано умови максимального вилучення СТЗ із сироватки крові, яке досягається подвійним осадженням білків 5% перхлоратною кислотою. За такого способу підготовки зразка вилучення перевищує 90%, що є більш ефективним порівняно з іншими відомими методами пробопідготовки для визначення СА у сироватці крові за допомогою ацетонітрилу (~85%) та етилацетату (~75%).

Проведено визначення СТЗ у модельних розчинах, які готували введенням його водного розчину у сироватку крові методом “введено–знайдено” (табл. 7), а потім – у реальному зразку крові людини, яка приймала препарат (табл. 8) за допомогою трьох реагентів – ТрО, ПАР і ТАР.

Як видно з табл. 7, вилучення з сироватки крові та визначення СТЗ спектрофотометричним методом з ТрО та ПАР узгоджується з результатами одержаними методом ВЕРХ. Спектрофотометричне визначення СТЗ з ТАР характеризується дуже високою похибкою (~40%), що можна пояснити негативним впливом матричних компонентів. Результати спектрофотометричного визначення СТЗ з ТрО та ПАР у сироватці крові через 1–2 год також узгоджуються з результатами хроматографічного визначення (табл. 8).

Таблиця 7

Визначення СТЗ з АР у сироватці крові методом “введено–знайдено”;  $n=3$ ,  $P=0,95$

Методика	Введено $C_{СТЗ}$ , мкг/мл	Знайдено		$S_r$
		$\bar{C}_{СТЗ} \pm \Delta C$ , мкг/мл	$\bar{C}_{СТЗ} \pm \Delta C$ , %	
Спектрофотометрично з ТрО	77	73±2	94±3	0,012
Спектрофотометрично з ПАР		69±3	89±4	0,016
Спектрофотометрично з ТАР		<b>83±32</b>	<b>107±41</b>	<b>0,154</b>
ВЕРХ, УФ		71±1	92±2	0,016

Таблиця 8

Визначення СТЗ з АР у сироватці крові лікованої людини;  $n=3$ ,  $P=0,95$

Методика	Сироватка крові			
	через 1 год після введення		через 2 год після введення	
	$\bar{C}_{СТЗ} \pm \Delta C$ , мкг/мл	$S_r$	$\bar{C}_{СТЗ} \pm \Delta C$ , мкг/мл	$S_r$
Спектрофотометрично з ТрО	31±2	0,023	24±3	0,055
Спектрофотометрично з ПАР	31±5	0,060	22±4	0,063
ВЕРХ, УФ	30±2	0,016	24±1	0,017

Отже, розроблені методики визначення СА з АР у біологічних зразках є достатньо селективними та чутливими, експреснішими та значно дешевшими за хроматографічне визначення, що дає змогу використати їх для визначення вмісту СА у сироватці крові та досліджувати фармакокінетику цих біологічно активних речовин у живому організмі.

## ВИСНОВКИ

1. Досліджено взаємодію СА з барвниками різних класів (трифенілметанові, ксантенові, діазинові та азобарвники). Вперше встановлено, що в реакцію з діазосолями СА вступають лише резорциновмісні АР – кислотний моноазобарвник ТрО, гетероциклічні азосполуки ПАР і ТАР та *o,o'*-дигідроксизаміщені азобарвники – ЕЧТ, ЕСЧР, ЕС SE.
2. Оптимізовано умови діазотування СА – вплив природи та концентрації кислоти (0,5–1,0 М хлоридна кислота), концентрацію діазотуючого реагенту (10-кратний надлишок відносно концентрації СА), температурний режим (кімнатна температура ~20°C) та тривалість реакції (20–30 хв). Встановлено умови максимального виходу забарвлених сполук діазосолей СА з моноазобарвниками та гетероциклічними азосполуками: кислотність середовища (для ТрО – рН 10,5, ПАР – рН 11,0, ТАР – рН 9,5, ЕЧТ та

- ЕСЧ R – рН 8,0, для ЕС SE – рН 7,5), надлишок реагенту (для ТрО та ТАР – 1,5-кратний, для ПАР та ЕС SE – 2-кратний, для ЕЧТ та ЕСЧ R – 6-кратний), вплив природи та концентрації буферного розчину (для ТрО, ПАР, ТАР – 0,01 М розчин натрій тетрабарату, для ЕЧТ, ЕСЧ R, ЕС SE – 0,004 М розчин УБС). Досліджено стійкість утворених сполук СА-ТрО – 3 год, СА-ПАР – 2 год, СА-ТАР – 1 год, СА-ЕЧТ, СА-ЕСЧ R та СА-ЕС SE – 20 хв.
3. Розроблено нові методики спектрофотометричного визначення СА з моноазобарвниками та гетероциклічними азосполуками; розраховано їх метрологічні характеристики:  $C_{\min}=0,27-0,75$  мкг/мл для ТрО,  $C_{\min}=0,45-0,66$  мкг/мл для ПАР,  $C_{\min}=0,55-3,09$  мкг/мл для ТАР,  $C_{\min}=3,10-14,9$  мкг/мл для ЕЧТ,  $C_{\min}=6,94-15,7$  мкг/мл для ЕСЧ R,  $C_{\min}=15,1-22,6$  мкг/мл для ЕС SE залежно від визначуваного СА. Запропоновані методики забезпечують високу чутливість і відтворюваність результатів ( $S_r \sim 5\%$ ,  $R=0,999$ ).
  4. Запропоновано ряди чутливості визначення СА з АР залежно від наявності та природи гетероциклічних замісників у молекулах СА і від природи замісників у структурі моноазобарвників та гетероциклічних сполук. Встановлено, що найчутливішими є методики визначення з резорциновмісними АР тих СА, які містять п'ятичленні гетероцикли кисню та сульфуру, при визначенні СА з *o,o'*-дигідроксизаміщеними азобарвниками найвищою чутливістю характеризуються ті СА, що містять у своїй структурі шестичленні піримідинові цикли з двома метокси- або метильними замісниками.
  5. Досліджено селективність розроблених методик щодо діючих (вітамінів, кортикостероїдів, бактеріостатиків, антибіотиків пеніцилінового, тетрациклінового, аміноглікозидного, фторхінолонового рядів, макролідів) та допоміжних (неорганічних та органічних солей натрію, кальцію, магнію, моно- та полісахаридів, багатоатомних спиртів, органічних кислот) речовин, які можуть входити до складу сульфаніламідних препаратів, в результаті чого показано можливість вибіркового визначення СА з резорциновмісними АР за присутності деяких антибіотиків і бактеріостатиків без попереднього розділення компонентів.
  6. Методики визначення СА з моноазобарвниками та гетероциклічними азосполуками перевірено при аналізі модельних розчинів, під час визначення вмісту СА в одно- та багатокомпонентних медичних і ветеринарних препаратах та крові і впроваджено у лабораторну практику п'яти фармацевтичних виробництв.

### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ:

1. Application of sulphanilamides disazo dyes with Tropaeolin O for simple, rapid and sensitive spectrophotometric assay of medicines / **M. Boiko**, T. Vrublevska, O. Korkuna, G. Teslyar // *Spectrochimica Acta A*. – 2011. – Vol. 79A, No. 2. – P. 325–331. (*Особистий внесок здобувача*: спектрофотометричне дослідження оптимальних умов діазотування СА та вивчення їх взаємодії з моноазобарвником ТрО. Обговорення результатів проводилось спільно з співавторами. Написання та оформлення статті).

2. Спектрофотометричне визначення сульфаніламідів у лікарських формах з використанням тропеоліну О / **М. Бойко**, Т. Врублевська, О. Коркуна, Г. Тесляр // Вісн. Львів. ун-ту. Серія хім. – 2011. – Вип. 52. – С. 174–183. (*Особистий внесок здобувача*: спектрофотометричне визначення СА в однокомпонентних ветеринарних і фармацевтичних препаратах різних лікарських форм. Обговорення результатів проводилось спільно з співавторами. Написання та оформлення статті).
3. Аналіз комбінованих лікарських препаратів на вміст сульфаніламідів / **М. Бойко**, Т. Врублевська, О. Коркуна, Г. Тесляр // Вісн. НУ «Львівська політехніка». Хімія, технологія речовин та їх застосування. – 2011. – №700. – С. 89–94. (*Особистий внесок здобувача*: дослідження вибірковості методики визначення СА з ТрО та їх спектрофотометричне визначення у комбінованих лікарських препаратах. Обговорення результатів проводилось спільно з співавторами. Написання та оформлення статті).
4. Спектрофотометрическое определение производных сульфаниламида с использованием 4-(2-пиридилазо)резорцина / **М. Бойко**, Т. Врублевская, О. Коркуна, И. Коцюмбас, Г. Тесляр // Вопросы химии и хим. технологии. – 2012. – №2. – С.116–126. (*Особистий внесок здобувача*: спектрофотометричне дослідження оптимальних умов діазотування СА та вивчення їх взаємодії з ПАР. Обговорення результатів проводилось спільно з співавторами. Написання та оформлення статті).
5. Определение сульфаниламидов в комбинированных лекарственных препаратах с использованием 4-(2-пиридилазо)резорцина / М. Бойко, Т. Врублевская, О. Коркуна, Г. Тесляр, Д. Янович // Заводская лаборатория. – 2012. – Т. 28, №11. – С.19–24. (*Особистий внесок здобувача*: дослідження вибірковості методики визначення сульфаніламідів з ПАР та їх спектрофотометричне визначення у комбінованих лікарських формах. Обговорення результатів проводилось спільно з співавторами. Написання та оформлення статті).
6. Взаємодія сульфаніламідів з барвниками різних класів / **М. Бойко**, Т. Врублевська, О. Коркуна, Г. Тесляр // Праці НТШ. Хем. Біохем. – 2011. – Т. 28. – С. 7–18. (*Особистий внесок здобувача*: спектрофотометричне дослідження взаємодії сульфаметазину з барвниками різних класів – азобарвниками, трифенілметановими, ксантоновими та діазиновими. Обговорення результатів проводилось спільно з співавторами. Написання та оформлення статті).
7. Розробка та валідація аналітичної методики спектрофотометричного визначення сульфаметазину в препараті “Мастисан-А-Форте” / **М. Бойко**, Т. Врублевська, О. Коркуна, І. Коцюмбас, Г. Тесляр, О. Смалюх // Фарм. журнал. – 2012. – №2. – С.50–59. (*Особистий внесок здобувача*: розробка методики спектрофотометричного визначення сульфаметазину у ветеринарному препараті "Мастисан-А-Форте" з використанням ТрО, проведення валідаційного експерименту, обчислення валідаційних характеристик. Дослідження міжлабораторної прецизійності проводилось разом з начальником аналітичної лабораторії Дослідного центру корпорації «Артеріум», АТВ “Галичфарм” О.Г.Смалюх. Обговорення результатів проводилось спільно зі співавторами. Написання та оформлення статті).

8. Пат. u201009544, МПК<sup>51</sup> G01N 21/75 G01N 21/78 (2011.01). Спосіб спектрофотометричного визначення сульфаніламідів у фармацевтичних препаратах / **Бойко М.Я.**, Врублевська Т.Я., Коркуна О.Я., Коцюмбас Л.Я., Янович Д.В., Тесляр Г.Ю.; заявники Львів. нац. ун-т ім. І. Франка, ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. – № 57675; заявл. 30.07.2010; опубл. 10.03.2011; Бюл. № 5. (*Особистий внесок здобувача: спектрофотометричне встановлення оптимальних умов взаємодії СА з моноазобарвником TrO, розробка та апробація методики їх визначення в однокомпонентних фармацевтичних препаратах. Обговорення результатів проводилось спільно з співавторами. Підготовка опису винаходу.*)
9. **Boiko M.** Badania spektrofometryczne sulfanilamidów z eozyną / **M. Boiko**, T. Vrublevska, O. Korkuna // Streszczenia VIII Polskiej Konferencji Chemii Analitycznej “Analityka dla społeczeństwa XXI wieku”, Kraków, 4–9 lipca 2010. – Kraków, 2010. – S. 144.
10. **Boiko M.** Interaction of some sulphanimides with dyes of different classes and its application for the analyses / **M. Boiko**, T. Vrublevska O. Korkuna // 3<sup>rd</sup> EuCheMS Chemistry Congress “Chemistry – the Creative Force”, Nürnberg, August 29–September 2, 2010 / Ed. by G. Karger. – Frankfurt am Main: Gesellschaft Deutcher Chemiker, 2010. – VIb.004.
11. **Бойко М.Я.** Використання деяких азобарвників для спектрофотометричного визначення сульфаніламідів / **М.Я. Бойко**, Л.Я. Стоколоса // Всеукраїнська конференція студентів та аспірантів “Хімічні каразінські читання – 2010” (ХКЧ 10), ХНУ імені В.Н. Каразіна, Харків, 19–22 квітня 2010 р. Тези доповідей. – Харків, 2010. – С. 58.
12. **Бойко М.Я.** Спектрофотометрія сульфаніламідів з тропеоліном О та 4-(2-піридил-азо)резорцином / **М.Я. Бойко**, Т.Я. Врублевська, О.Я. Коркуна // Наукова конференція, присвячена 100-й річниці з дня народження професора І.В. Пятницького, Київ, 10–13 жовтня 2010. Тези доповідей. – Київ, 2010. – С. 50.
13. **Бойко М.** Вибірковість методик спектрофотометричного визначення сульфаніламідів з азореагентами / **М. Бойко**, Т. Врублевська, О. Коркуна // Тринадцята наукова конференція “Львівські хімічні читання–2011”, Львів, 28 травня – 1 червня 2011 р. Збірник наукових праць. – Львів, 2011. – С. У92.
14. **Бойко М.Я.** Реакції сульфаніламідів з азобарвниками та їх використання в аналізі / **М.Я. Бойко**, Т.Я. Врублевська // Річна сесія наукової ради НАН України з проблеми “Аналітична хімія”, Гурзуф, 16–22 травня 2011 р. Тези доповідей. – Гурзуф, 2011. – С. 72.
15. **Бойко М.Я.** Аналитический контроль содержания сульфаниламидов в комбинированных лекарственных средствах с использованием азореагентов / **М.Я. Бойко**, О.Я. Коркуна, Л.Я. Стоколоса // VI конференция молодых ученых “Теоретическая и экспериментальная химия жидкофазных систем”, Иваново, 8–12 ноября 2011 г. Тезисы докладов. – Иваново, 2011. – С. 17.
16. A new spectrophotometric method for control of antimicrobial drugs content / **M. Ya. Boiko**, T. Ya. Vrublevska, O. Ya. Korkuna, G. U. Teslyar // Шоста Всеукраїнська

- наукова конференція студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю “Хімічні проблеми сьогодення”, Донецьк, 12–15 березня 2012 р. Збірка тез доповідей. – Донецьк, 2012. – С. 18.
17. **Бойко М.Я.** Реакции сульфаниламидов с некоторыми азореагентами и их применение для контроля качества лекарственных средств / **М.Я. Бойко**, О.Я. Коркуна // VI Всероссийская конференция молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием “Менделеев-2012”, Санкт-Петербург, 3–6 апреля 2012 г. Тезисы докладов. – Санкт-Петербург, 2012. – С. 45–47.
18. **Бойко М.Я.** Разработка и валидация спектрофотометрических методик определения сульфаметазина в многокомпонентных лекарственных средствах с использованием азореагентов: тропеолина О, 4-(2-пиридилазо)резорцина и 4-(2-тиазолилазо)-резорцина / О.Я. Коркуна, **М.Я. Бойко** // VI Всероссийская конференция молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием “Менделеев-2012”, Санкт-Петербург, 3–6 апреля 2012 г. Тезисы докладов. – Санкт-Петербург, 2012. – С. 199–201.
19. **Бойко М.Я.** Спектрофотометрическое исследование взаимодействия сульфаниламидов с *o,o'*-дигидроксизамещенными азокрасителями / **М.Я. Бойко**, И.Н. Костюк // Материалы XIX Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых “Ломоносов”. Секция Химия, Москва, 9–13 апреля 2012 г. – Москва, 2012. – С. 9.
20. Стоколоса Л.Я. 4-(2-тіазолілазо) резорцин – новий реагент для визначення сульфаніламідів в різних лікарських формах / Л.Я. Стоколоса, І.М. Костюк, **М.Я. Бойко** // Тринадцята Всеукраїнська конференція з міжнародною участю студентів та аспірантів “Сучасні проблеми хімії”, Київ, 25–27 квітня 2012 р. Збірка тез доповідей. – Київ, 2012. – С. 171.
21. The interaction in sulphanilamides – azo dyes systems and their analytical application / **M. Boiko**, T. Vrublevska, O. Korkuna, G. Teslyar // 4<sup>th</sup> EuCheMS Chemistry Congress, Prague, August 26–30, 2012. Abstract book. – Prague, 2012. – P. 1114.
22. **Бойко М.Я.** Полярографічне дослідження взаємодії азореагентів із сульфаніламидами у водних розчинах / **М.Я. Бойко**, Т.Я. Врублевська, О.Я. Коркуна // III науково-практичний семінар студентів, аспірантів і молодих учених “Прикладні аспекти електрохімічного аналізу”, Львів, 3–5 жовтня 2012 р. Тези доповідей. – Львів, 2012. – С. 33.

## АНОТАЦІЯ

**Бойко М.Я. Моноазобарвники та гетероциклічні азосполуки як аналітичні реагенти для спектрофотометричного визначення сульфаніламідів. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.02 – аналітична хімія. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка МОН України, Київ, 2013.

Дисертаційна робота присвячена вивченню взаємодії СА з моноазобарвниками тропеоліном О, еріохром чорним Т, еріохром синьо-чорним R та еріохром синім SE та

гетероциклічними азосполуками 4-(2-піридилазо)резорцином і 4-(2-тіазолілазо)-резорцином, з метою розробки ефективних спектрофотометричних методик їх визначення у лікарських препаратах і біологічних зразках. СА взаємодіють з азореагентами із утворенням забарвлених сполук.

Встановлено оптимальні умови отримання аналітичного сигналу: кислотність середовища, концентрації реагентів і послідовність їх додавання, стабільність забарвлених продуктів. Розраховано ефективні молярні коефіцієнти світлопоглинання забарвлених сполук ( $\bar{\epsilon}_{\lambda} \sim (10^2-10^4) \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ). Розроблено чутливі, прості та експресні методики спектрофотометричного визначення СА з АР; розраховано їх метрологічні характеристики. Досліджено селективність розроблених методик щодо діючих і допоміжних речовин, які входять до складу лікарських засобів та апробовано їх при визначенні СА у комбінованих лікарських засобах і сироватці крові.

*Ключові слова:* спектрофотометрія, сульфаніламід, моноазобарвники, гетероциклічні азосполуки, лікарські препарати, біологічні рідини.

## АННОТАЦІЯ

**Бойко М.Я. Моноазокрасители и гетероциклические азосоединения как аналитические реагенты для спектрофотометрического определения сульфаниламидов. – Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия. – Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко МОН Украины, Киев, 2013.

Диссертационная работа посвящена изучению взаимодействия СА с моноазокрасителями тропеолином О, эриохром черным Т, эриохром сине-черным R и эриохром синим SE, а также гетероциклическими азосоединениями 4-(2-пиридилазо)резорцином и 4-(2-тиазолилазо)резорцином с целью разработки эффективных спектрофотометрических методик их определения в лекарственных препаратах и биологических образцах. СА взаимодействуют с азореагентами, в результате чего образуются окрашенные соединения.

Установлены оптимальные условия взаимодействия диазоль СА с АР: кислотность среды составляет рН=7,5–8,0 при взаимодействии СА с ЕЧТ, ЕСЧR, ЕС SE, и 9,5–11,0 при взаимодействии СА с ТрО, ПАР и ТАР; для получения максимального количества окрашенных продуктов необходимо использовать 1,5-кратный избыток АР при взаимодействии диазосоль СА с ТрО и ТАР, 2-кратный при использовании ПАР и ЕС SE и 6-кратный в случае ЕЧТ и ЕСЧR. При взаимодействии диазосоль СА с ТрО, ПАР и ТАР на спектрах продуктов появляются новые, по сравнению со спектром реагента, максимумы светопоглощения с  $\lambda_{\text{max}}=590-620 \text{ нм}$ , с ЕЧТ и ЕСЧR – при  $\lambda_{\text{max}}=485 \text{ нм}$ , а с ЕС SE – протяжное плечо при  $\lambda=340-400 \text{ нм}$ . Эти спектральные области были использованы для исследований.

Установлено, что аналитические формы СА с ТрО, ПАР, ТАР являются стабильными в течение 1–3 ч, а при взаимодействии с ЕЧТ, ЕСЧR, ЕС SE – 20 мин.

Рассчитано значение эффективных молярных коэффициентов светопоглощения окрашенных соединений ( $\bar{\epsilon}_{\lambda} \sim (10^2-10^4) \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ).

Величины аналитических сигналов при спектрофотометрическом определении СА с АР линейно зависят от концентрации биологически активного вещества в растворе: при использовании ТрО самой высокой чувствительностью обладает методика определения СТЗ ( $C_H=0,3 \text{ мкг/мл}$ ), с ПАР–СТЗ ( $C_H=0,4 \text{ мкг/мл}$ ), ТАР–СМО ( $C_H=0,6 \text{ мкг/мл}$ ), ЕЧТ–СТЗ ( $C_H=3,1 \text{ мкг/мл}$ ), ЕСЧР–СДМ ( $C_H=6,9 \text{ мкг/мл}$ ), ЕС SE–СМТ ( $C_H=14,9 \text{ мкг/мл}$ ). На основе полученных результатов разработаны селективные и экспрессные спектрофотометрические методики определения СА с АР.

Исследована селективность разработанных методик относительно вспомогательных и действующих веществ лекарственных препаратов. Разработанные методики определения СА с АР позволяют осуществлять аналитический контроль СА в сложных объектах – комбинированных лекарственных средствах и сыворотке крови.

*Ключевые слова:* спектрофотометрия, сульфаниламиды, моноазокрасители, гетероциклические азосоединения, лекарственные препараты, биологические жидкости.

## SUMMARY

**Boiko M.Ya. Monoazo dyes and heterocyclic azocompounds as analytical reagents for spectrophotometric determination of sulphanilamides. – Manuscript.**

Thesis for obtaining a scientific degree of a Candidate of Chemical Sciences. Speciality 02.00.02 – Analytical Chemistry. – Kyiv National Taras Shevchenko University of MES of Ukraine, Kyiv, 2013.

The thesis deals with the study of sulphanilamides (SA) interaction with monoazo dyes Tropaeolin O, Eriochrome black T, Eriochrome blue black R and Eriochrome blue SE as well as heterocyclic azoreagents 4-(2-pyridylazo) resorcinol and 4-(2-thiazolylazo) resorcinol for the further elaboration of effective spectrophotometric methods of their determination in drugs and biological samples.

The optimum conditions of the analytical signals obtaining have been established: the acidity of the media, azoreagents concentrations and the order of reagents adding, the stability of coloured products. The values of effective molar absorptivities of the coloured compounds have been calculated ( $\bar{\epsilon}_{\lambda} \sim (10^2-10^4) \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ).

Sensitive, simple and rapid spectrophotometric methods for SA determination with azoreagents have been developed, the validation parameters have been calculated. The selectivity of the elaborated methods towards auxiliary substances and bioactive substances, which can present in drug composition has been investigated. The methods of SA determination in the single- and multicomponent drugs as well as blood serum have been elaborated and approved.

Key words: spectrophotometry, sulphanilamides, monoazo dyes, heterocyclic azoreagents, medical preparations, biological fluids.