



УКРАЇНА

(19) UA (11) 57675 (13) U  
(51) МПК (2011.01)  
G01N 21/75  
G01N 21/78 (2011.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

### (54) СПОСІБ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ СУЛЬФАНІЛАМІДІВ У ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ПРЕПАРАТАХ

1

(21) u201009544

(22) 30.07.2010

(24) 10.03.2011

(46) 10.03.2011, Бюл.№ 5, 2011 р.

(72) БОЙКО МАРІЯ ЯРОСЛАВІВНА, ВРУБЛЕВСЬКА ТЕОДОЗІЯ ЯРОСЛАВІВНА, КОРКУНА ОЛЬГА ЯРЕМІВНА, КОЦЮМБАС ІГОР ЯРОСЛАВОВИЧ, ЯНОВИЧ ДМИТРО ВАДИМОВИЧ, ТЕСЛЯР ГРИГОРІЙ ЮХИМОВИЧ

(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА, ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ КОНТРОЛЬНИЙ ІНСТИТУТ ВЕ-

2

ТЕРИНАРНИХ ПРЕПАРАТІВ ТА КОРМОВИХ ДОБАВОК

(57) Спосіб спектрофотометричного визначення сульфаніламідів у фармацевтичних препаратах, що включає взаємодію сульфаніламідів з діазотуючим та хромогенним аналітичним реагентами з охолодженням на льодяній бані, який **відрізняється** тим, що як хромогенний аналітичний реагент використовують азобарвник тропеолін О з концентрацією від  $1,5 \cdot 10^{-5}$  М до  $1,0 \cdot 10^{-4}$  М в лужному середовищі при рН 10-11, а діазотуючий реагент - натрій нітрит з концентрацією від  $5 \cdot 10^{-5}$  М до  $5 \cdot 10^{-4}$  М.

Корисна модель відноситься до галузі аналітичної хімії лікарських засобів і може бути використана при визначенні сульфаніламідів у модельних розчинах різного складу та реальних складних об'єктах, а саме у лікарських препаратах таблетованих, порошкових, мазевих та рідких форм.

Відомий спосіб визначення сульфаніламідів нітритометричним титруванням [Державна фармакопея України. Доповнення 2. Харків, 2008. - С. 550-552], суть якого полягає у титруванні розчину, який містить досліджувану субстанцію і калій бромід, охолодженого льодяною банею, розчином натрій нітриту. Точку еквівалентності визначають електрометрично.

Недоліком є невисока чутливість та селективність (визначають сполуки, які містять первинну або вторинну аміногрупу, гідразиди), складність процесу визначення.

Відомий спосіб спектрофотометричного визначення сульфаніламідів з п-диметиламінокоричним альдегідом [Клокова Е.В., Дмитриенко С.Г. Спектрофотометрическое определение сульфаниламидов по реакции конденсации с п-диметиламинокоричным альдегидом // Вестн. моск. ун-та. Сер.2. Химия. -2008. -Т.49. - №5. -С. 339-343], що ґрунтується на отриманні забарвлених сполук сульфаніламідів з реагентом у середовищі ацетонітрилу у присутності 0,2 М хлоридної кислоти.

Недоліком способу є використання токсичного органічного середовища та невисока відтворюваність результатів.

Відомий спосіб спектрофотометричного визначення сульфаніламідів з 7-хлор-4,6-динітробензолфуроксаном та 4-хлор-5,7-динітробензолфуроксаном [М.И. Евгеньев, С.Ю. Гармонов, Л.Ш. Шакирова, Ф.С. Левинсон. Спектрофотометрическое и хроматографическое определение сульфаниламидов в биологических жидкостях и лекарственных формах // Журнал аналитической химии. -2000. -Т.55. -№8. -С.888-895], що ґрунтується на отриманні забарвлених сполук сульфаніламідів з цими реагентами, які синтезуються extempore, в середовищі 10% трихлороцтової кислоти, ацетонітрилу та 0,05 М ацетатного буферного розчину.

Недоліком способу є необхідність екстемпорального синтезу аналітичних реагентів.

Відомий спосіб спектрофотометричного визначення сульфаніламідів з о-фталевим альдегідом [Faiyaz H.M. Vaid, M. Aminuddin, Karamat Mehmood. o-Phthalaldehyde based spectrophotometric determination of sulfonamides // Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. -2004. -Vol.17. -No.2. -P.77-84], за яким отримують сполуку, смуга світлопоглинання якої лежить при 340 нм у водно-спиртовому середовищі у присутності 0,4 % розчину 2-метил-2-пропантіолу.

(19) UA (11) 57675 (13) U

Недоліком способу є невисока контрастність реакції та невисока чутливість (10 мкг/мл).

Відомий спосіб спектрофотометричного визначення сульфаніламідів з барвником алізарином та його похідними [A.S. Amin, G.O. El-Sayed, Y.M. Issa. Application of alizarine derivatives as chromogenic reagents for the spectrophotometric determination of some sulfa drugs // *Microchemical Journal*. -1995. -Vol.51. -P.367-373], що ґрунтується на утворенні забарвлених сполук сульфаніламідів з реагентами у водно-етанольному розчині універсальної буферної суміші.

Недоліком способу є невисока контрастність та невисока чутливість реакції (5-10 мкг/мл).

Відомий спосіб прямого спектрофотометричного визначення сульфаніламідів за власним поглинанням в ультрафіолетовій області при 240-260 нм у межах концентрацій 1-20 мкг/мл [Yongnian Ni, Zhengbao Qi, Serge Kokot. Simultaneous ultraviolet-spectrophotometric determination of sulfonamides by multivariate calibration approaches // *Chemometrics and intelligent laboratory systems*. - 2006. - Vol. 82. - P. 241-247].

Недоліком способу є низька селективність визначення, оскільки більшість органічних речовин мають смугу світлопоглинання у цій же області.

Найближчим за технічною суттю прототипом є спосіб визначення сульфаніламідів з 3-амінофенолом [P. Nagaraja, H.S. Yathirajan, C.R. Raju, R.A. Vasanth, P. Nagendra, M.S. Hemantha Kumar. 3-Aminophenol as a novel coupling agent for the spectrophotometric determination of sulfonamide derivatives // *Il Farmaco*. -2003. -Vol.58. - P. 1295-1300], за яким змішують розчини 5 М хлоридної кислоти, сульфаніаміду і 1 % розчин натрій нітриду. Суміш витримують впродовж 5 хв. на льодяній бані, після чого додають 2 % розчин сульфанілової кислоти для нейтралізації надлишку натрій нітриду, витримують 5 хв. за кімнатної температури, додають 2 % розчин 3-амінофенолу, нагрівають впродовж 5 хв. на киплячій водяній бані, отримують забарвлену сполуку сульфаніаміду з 3-амінофенолом та вимірюють світлопоглинання при довжині хвилі 460 нм. Межі визначувані концентрації становлять від 0,5 мкг/мл до 6 мкг/мл.

Недоліками способу є використання додаткового реагенту - сульфамінової кислоти, яка під дією натрій нітриду також діазотується, а також нагрівання, під дію якого утворені продукти реакції можуть руйнуватись, що зменшує точність визначення.

В основу створення корисної моделі поставлено завдання вдосконалити спосіб спектрофотометричного визначення сульфаніламідів у фармацевтичних препаратах шляхом використання нового реагента, що дасть змогу спростити спосіб і розширити межі визначувані концентрації.

Сульфаніламід - похідні п-амінобензолсульфанілової кислоти широко використовуються у фармацевтичній та ветеринарній практиці як діючі речовини антибактеріальних препаратів. Безпечно та ефективно використання цих фармацевтичних препаратів вимагає, серед іншого, контролю однорідності вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу.

Багатокомпонентність лікарських форм на основі сульфаніламідів вимагає застосування вибіркового і чутливого способів визначення вмісту цих речовин у лікарських формах.

Важливим інструментом для визначення в лікарських засобах концентрації діючих речовин, зокрема сульфаніламідів, є спектрофотометрія їх кольорових похідних, основними перевагами якої є простота, доступність, експресність аналізу. Перспективними хромогенними аналітичними реагентами для кількісного визначення сульфаніламідів є азобарвники.

З літературних джерел відомо, що тропеолін О є найпростішим представником класу кислотних моноазобарвників. Як кислотно-основний індикатор ТрО застосовують у вигляді 0,1 % водного розчину. Інтервал переходу забарвлення знаходиться у межах рН 11,1 (жовтий) до рН 12,7 (червоно-бурий);  $pK_a=11,8$ . При рН 11,1 максимум поглинання барвника знаходиться у діапазоні довжин хвиль 420-440 нм ( $\epsilon=3,3 \cdot 10^4 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ), а при рН 12,7 становить 475-495 нм ( $\epsilon=2,2 \cdot 10^4 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ) [К. Венкатараман. Химия синтетических красителей. Т.3. -Л: Госхимиздат, 1974. -С. 1952-2009]. Також з літературних джерел відомо про використання тропеоліну О для спектрофотометричного визначення паладію [Saxena K.K., Dey A.K. Specific colorimetric reagents for the determination of palladium (II) // *Anal. Chem.* -1968. -Vol.40. -No 8. -P. 1280-1285.; Seth R.L., Dey A.K. Studies on some soluble palladium (II) chelates in aqueous solution. Part II. Chelate formation between palladium (II) and p-benzylsulphonic acid azo-resorcin (sodium salt) (Tropelin O) // *J. Indian Chem. Soc.* - 1963. - Vol. 40. - No 9. - P. 794-796.] та осмію [Бонішко О.С., Полько М.В., Коркуна О.Я., Врублевська Т.Я. Спектрофотометричне дослідження взаємодії іонів осмію (IV) з тропеоліном О // *Вісн. Харків, ун-ту* - 2007. -№ 770. Серія Хім. Вип. 15(38). - С. 70-75].

Автори вперше використали азобарвник тропеолін О як хромогенний аналітичний реагент для кількісного визначення сульфаніаміду та його похідних. Спосіб ґрунтується на отриманні забарвлених продуктів взаємодії сульфаніламідів з тропеоліном О - діазобарвників (4) синього кольору, максимум світлопоглинання якого відповідає  $\lambda_{\text{max}}=595$  нм. У середовищі хлоридної кислоти нітрит-іони діазотують первинну ароматичну групу сульфаніламідів (1) з утворенням діазосолі (2), яка у лужному середовищі (рН 10,5) взаємодіє з азобарвником (3), утворюючи кольоровий продукт, інтенсивність забарвлення якого пропорційна концентрації сульфаніаміду у досліджуваному розчині. (Фіг. 1)

Фіг. 1. Схема взаємодії сульфаніламідів з тропеоліном О.

Фіг. 2. Електронні спектри поглинання розчинів тропеоліну О та продуктів взаємодії сульфаніламідів з тропеоліном О.

- 1 - тропеолін О;
- 2 - сульфаніламід+тропеолін О;
- 3 - сульфаметоксазол +тропеолін О;
- 4 - сульфадимезин+тропеолін О;
- 5 - сульфадиметоксин+тропеолін О;
- 6 - сульфамеразин+тропеолін О.

$C(\text{HCl})=0,5$  моль/л,  $C(\text{NaNO}_2)=2,5 \cdot 10^{-4}$  моль/л, рН 10,5,  $C(\text{тропеоліну О})=2,5 \cdot 10^{-5}$  моль/л,  $C(\text{сульфаніламідів})=4$  мкг/мл,  $l=1$  см,  $\lambda_{\text{max}}=595$  нм.

Спосіб випробовували за різного складу реакційного середовища, але для прикладу вибрали умови максимального виходу забарвлених кінцевих продуктів.

Спосіб спектрофотометричного визначення сульфаніламідів з тропеоліном О: до мірної колби місткістю 25 мл послідовно вносять 5,0 мл 0,5 М розчину хлоридної кислоти, аліквотну частину досліджуваного розчину, що містить 50 мкг сульфаніламідів, або 100 мкг сульфадимезину, або 100 мкг сульфамеразину, або 100 мкг сульфадиметоксину, або 100 мкг сульфаметоксазолу, додають 0,5 мл  $1,25 \cdot 10^{-2}$  моль/л розчину натрій нітриту. Отри-

ману суміш перемішують і охолоджують на льодяній бані впродовж 10 хв, після чого додають 0,5 мл  $1,25 \cdot 10^{-3}$  моль/л водного розчину тропеоліну О. Створюють кислотність середовища отриманого розчину за допомогою розчину натрій гідроксиду із рН 10,5. Доводять вміст колби до мітки дистильованою водою і розчин перемішують. Вимірювання інтенсивності світлопоглинання досліджуваного розчину відносно розчину порівняння (холостої проби) ( $\Delta A$ ) здійснюють спектрофотометрично при довжині хвилі  $\lambda_{\text{max}}=595$  нм, використовуючи кювети  $l=1$  см. Концентрацію сульфаніламідів знаходять за попередньо побудованим градувальним графіком або способом порівняння.

Результати визначення наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Результати спектрофотометричного визначення сульфаніламідів з тропеоліном О

Умови	Сульфаніламід	Сульфадимезин	Сульфамеразин	Сульфадиметоксин	Сульфаметоксазол
$C(\text{HCl})$ , моль/л	0,4-1,0	0,4-1,0	0,4-1,0	0,4-1,0	0,4-1,0
$C(\text{NaNO}_2)$ , моль/л	$5 \cdot 10^{-5}$ - $5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-5}$ - $5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-5}$ - $5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-5}$ - $5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-5}$ - $5 \cdot 10^{-4}$
$t(0^\circ\text{C})$ , хв.	10	10	10	10	10
$C(\text{Tr O})$ , моль/л	$1,5 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-4}$
рН	10-11	10-11	10-11	10-11	10-11
Стабільність, год	10	10	10	10	10
$\lambda_{\text{max}}$ , нм	595	595	595	595	595
$\varepsilon$ , л·моль <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup>	$2,7 \cdot 10^4$	$3,1 \cdot 10^4$	$2,0 \cdot 10^4$	$3,1 \cdot 10^4$	$3,0 \cdot 10^4$
Лінійність, мкг/мл	0,4-7,0	0,4-10	0,4-12	0,4-10	0,4-9,0
Рівняння градувального графіка	$y=0,001+0,146 \cdot x$	$y=0,009+0,098 \cdot x$	$y=0,043+0,066 \cdot x$	$y=0,010+0,087 \cdot x$	$y=0,015+0,109 \cdot x$
$S_{\text{min}}$ , мкг/мл	0,19	0,14	0,14	0,16	0,14
Коефіцієнт кореляції	0,9995	0,9998	0,9994	0,9994	0,9997

Запропонованим способом було визначено вміст сульфаніламідів у фармацевтичних препаратах. Результати наведені у таблиці 2 ( $P=0,95$ ;  $n=5$ ).

Таблиця 2

Результати спектрофотометричного визначення сульфаніламідів у фармацевтичних препаратах

Таблетки	$\bar{x} \pm \frac{S \cdot t_{\alpha}}{\sqrt{n}}$ <sup>1</sup> Вміст мг/табл	<sup>1</sup> $S_r$	$\bar{x} \pm \frac{S \cdot t_{\alpha}}{\sqrt{n}}$ <sup>2</sup> Вміст мг/табл	<sup>2</sup> $S_r$
Стрептоцид	501±6	0,010	500±8	0,013
Сульфадимезин	501±5	0,008	501±7	0,011
Сульфадиметоксин	499±8	0,013	501±8	0,013

<sup>1</sup> - вміст, визначений фармакопейним способом - нітритометричним титруванням;

<sup>2</sup> - вміст, визначений розробленим способом з використанням тропеоліну О

Використання запропонованого хромогенного аналітичного реагента (тропеоліну О) для визначення вмісту сульфаніламідів дало змогу спростити спосіб, певною мірою здешевити його та

розширити межі визначуваних концентрацій сульфаніламідів, що підтверджує передбачуваний технічний результат.

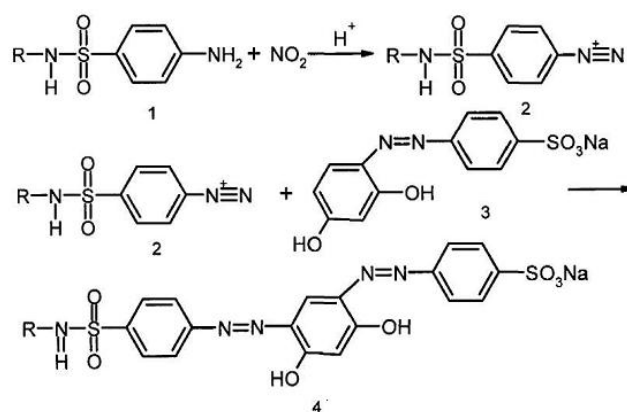


Fig. 1

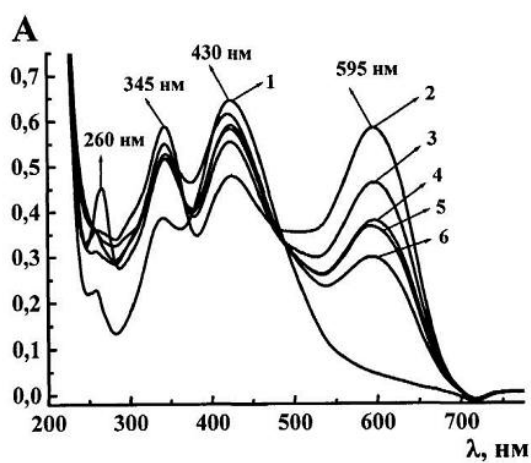


Fig. 2