

Methods of Spectrophotometric Determination of Sulphanilamides. Review

M.Ya. Smolinska^{*,†}, O.Ya. Korkuna[†], I.Ya. Kotsiumbas[†], T.Ya. Vrublevska[†], G.Yu. Teslyar[†]

[†]State Scientific Research Control Institute of Veterinary Preparations and Fodder Additives, Donetska Str., 11, Lviv, Ukraine, 79019; *e-mail: boiko_maria@ukr.net

[†]Ivan Franko National University, Kyryla and Mefodia Str., 6, Lviv, Ukraine, 79005

Received: January 28, 2016; Accepted: November 18, 2016

DOI: 10.17721/moca.2016.51-81

In a review the known techniques of spectrophotometric determination of sulfanilamides (SA) published in period from 1937 to 2015 were considered. They are conditionally divided into two basic groups. The first group (less numerous) includes techniques of determination of SA based on own absorption in the UV-region of the spectrum. The second group (more numerous) combines the techniques based on spectrophotometry of colored products of SA formed at the reactions of condensation, chelation, nucleophilic substitution with different organic reagents and formed in azo coupling reactions of diazonium salts of SA with amino and/or hydroxyl-containing organic compounds. It should be mentioned, in second group a special place is occupied techniques of kinetic and extractive-spectrophotometric determination of SA.

The main advantages and disadvantages of spectrophotometric techniques of SA determination have been characterized. The conclusions concerning the trends of analysis of methodological approaches SA, which can be traced in scientific work in this direction was made.

Keywords: spectrophotometry, sulphanilamides, reactions of azocoupling, condensation, chelation, nucleophilic substitution, medicinal preparations, biological liquids

Методи спектрофотометричного визначення сульфаніламідів. Огляд

М.Я. Смолінська^{*,†}, О.Я. Коркуна[†], І.Я. Коцюмбас[†], Т.Я. Врублевська[†], Г.Ю. Тесляр[†]

[†]Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, вул. Донецька, 11, Львів, Україна, 79019; *e-mail: boiko_maria@ukr.net

[†]Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Кирила і Мефодія, 6, Львів, Україна, 79005

Надійшла: 28 січня 2016 р; Прийнята: 18 листопада 2016 р

DOI: 10.17721/moca.2016.51-81

В огляді розглянуто, опубліковані у період з 1937 по 2015 рр., методи спектрофотометричного визначення сульфаніламідів (СА) в ультрафіолетовій та видимій ділянках спектру, які умовно поділені на дві основні групи. Перша група, менш чисельна, – методи визначення СА за власним світлопоглинанням в УФ-ділянці спектру. Друга група, значно багаточисельніша, об'єднує методи, що ґрунтуються на спектрофотометрії забарвлених продуктів СА, утворених у реакціях конденсації, комплексоутворення, нуклеофільного заміщення з різними органічними реагентами та у реакціях азосполучення діазосолей СА з органічними сполуками, що містять аміно- та/або гідроксигрупи. У другій групі окреме місце посідають методи кінетичного та екстракційно-спектрофотометричного визначення СА.

Охарактеризовано основні переваги та недоліки методик спектрофотометричного визначення СА. Зроблено висновки стосовно тенденцій розвитку методичних підходів аналізу СА, які простежуються у наукових роботах цього напрямку.

Ключові слова: спектрофотометрія, сульфаніламід, реакції азосполучення, конденсації, комплексоутворення, нуклеофільного заміщення, лікарські препарати, біологічні рідини

Сульфаніламід (СА) утворюють групу хімічних речовин, похідних 4-амінобензолсульфонамідів і належать до одного з найстаріших класів синтетичних антибактеріальних засобів, що істотно вплинули на можливість успішного вирішення проблеми боротьби з багатьма інфекційними

захворюваннями. СА є структурними аналогами (антиметаболітами) *l*-амінобензойної кислоти – важливого метаболіту мікроорганізмів, що є одним з попередників біосинтезу фолієвої кислоти, коферментна форма якої – тетрагідрофолієва кислота, у складі відповідних ферментів, бере

участь у біосинтезі нуклеїнових кислот, амінокислот і ліпідів. Хоча СА, як бактеріостатики, поступаються протимікробною активністю антибіотикам, проте виявляють меншу побічну дію. Незважаючи на існування більш активних антибактеріальних лікарських речовин (ЛР), СА продовжують широко застосовувати у терапії інфекційних патологій. З метою підвищення ефективності лікарського препарату (ЛП) та істотного зниження частоти утворення резистентних форм мікроорганізмів СА поєднують в одному ЛП з іншими

антибактеріальними ЛР (бактеріостатиками, антибіотиками пеніцилінового, тетрациклінового, аміноглікозидного, фторхінолонового рядів, макролідами) [1, 2].

У теперішній час синтезовано понад 15 тисяч похідних 4-амінобензолсульфонаміду, з яких близько 40 впроваджені у медичну практику, як антибактеріальні ЛП. Формули найпоширеніших СА, які використовуються у лікарській практиці наведені на рис. 1.

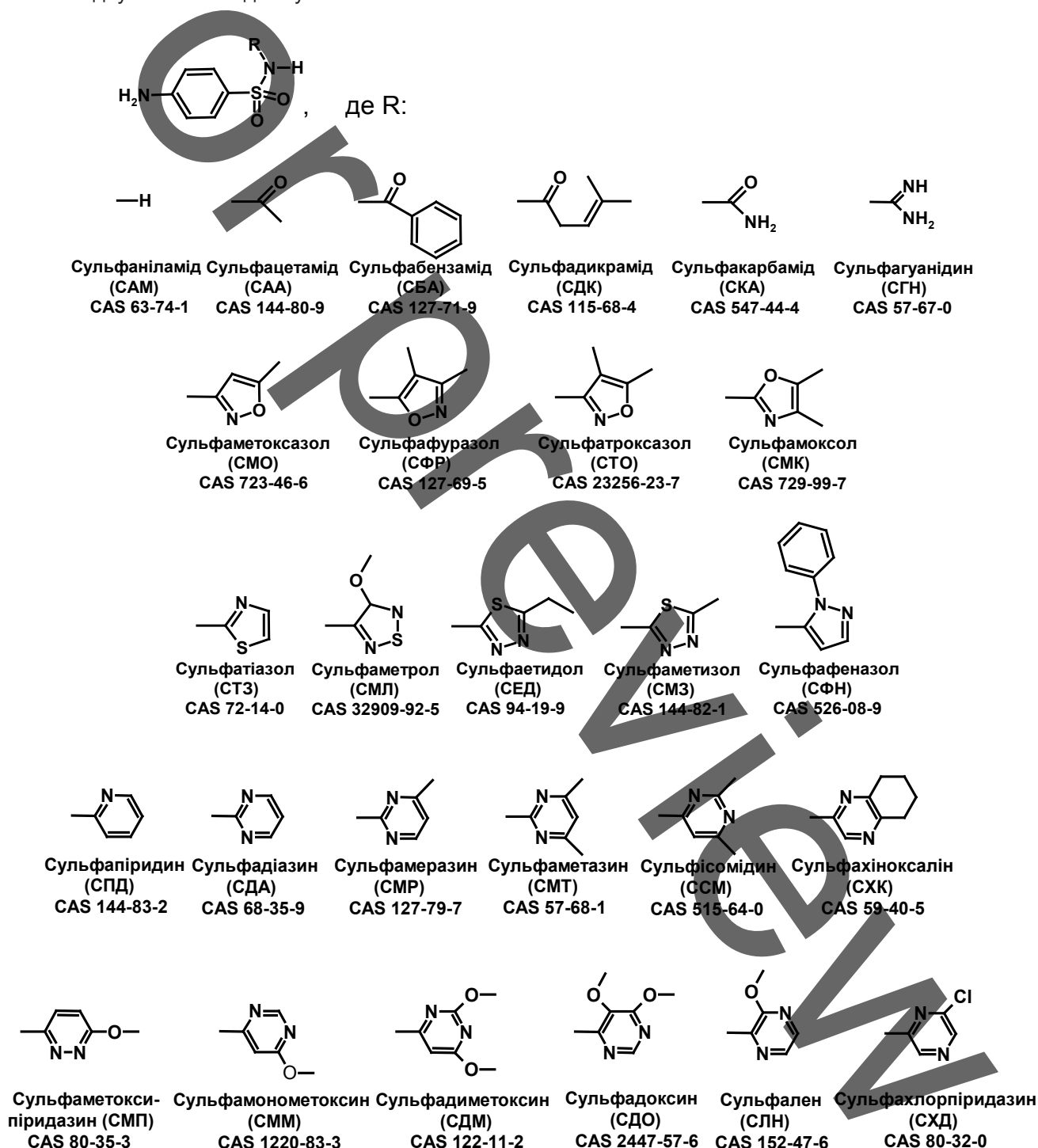


Рис. 1. Формули найпоширеніших СА [3].

Розчинність більшості СА в розчинах кислот та лугів зумовлена їх амфотерними властивостями. Вони виявляють основні властивості за рахунок наявності ароматичної аміногрупи. Кислотні властивості виражені сильніше, ніж основні, і зумовлені наявністю в молекулі сульфамідної групи, яка містить рухливий атом гідрогену (рис. 2). Тому вони розчиняються, як у кислотах, так і в лугах з утворенням відповідних солей [1, 4].

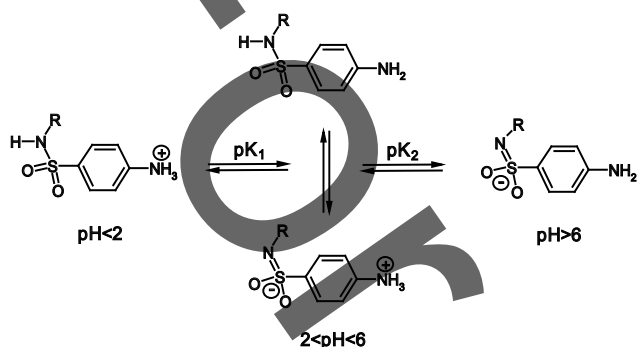


Рис. 2. Протолітичні форми СА у водних розчинах.

Різні за хімічною будовою похідні СА практично не відрізняються один від одного за механізмом дії на клітини бактерій, однак відрізняються за фармакологічними характеристиками.

Широке використання у медичній та ветеринарній практиці СА у складі різних ЛП обумовило розмаїття аналітичних методів контролю їх якості. Основними об'єктами аналізу на вміст СА є субстанції ЛР при вхідному контролі сировини на фармацевтичних підприємствах, проміжні продукти під час технологічного процесу виробництва ліків, готові однокомпонентні та комбіновані ЛП, біологічні тканини та харчові продукти тваринного походження. Фармакопейний контроль СА-вмісних ЛП покликаний гарантувати їх високу якість та нешкідливість. Моніторинг вмісту СА у біологічних рідинах дає можливість проводити безпечне лікування хворих, а контроль вмісту залишкових кількостей СА та їх метаболітів у продуктах тваринного походження – забезпечити населення якісними продуктами харчування і, що є надзвичайно актуальним, убезпечити людей і тварин від утворення резистентних форм патогенної бактерійної мікрофлори.

Більшість сучасних фізико-хімічних методів визначення СА ґрунтується на принципах спектрофотометрії та хроматографії [1, 4, 6–9]. У літературі [10–12] описані також хромато-маспектрометричні, електрохімічні (вольтамперометричні, потенціометричні, кулонометричні, електрофоретичні), титриметричні та флуориметричні методи визначення СА. Спектрофотометричні, титриметричні та більшість електрохімічних методик застосовуються для визначення сумарного вмісту СА. Хроматографічні, хромато-маспектрометричні та електрофоретичні

методики дають можливість з високою чутливістю і вибірковістю визначати різні СА навіть у їх сумішах і тому придатні для здійснення аналізу біологічних об'єктів та продуктів харчування тваринного походження [10, 11]. Завдяки високій селективності та чутливості широкого застосування набув також імунохімічний метод визначення СА [13, 14].

У Державній Фармакопеї України [6], як і у Європейській [7], для визначення СА у субстанціях рекомендований метод нітритометричного титрування. Для визначення вмісту СА у ЛП користуються фармацевтичними статтями Британської Фармакопеї [8] та Фармакопеї США [9], де описані методики на основі нітритометричного титрування та УФ-спектрофотометрії, для аналізу ж комбінованих ЛП прописано застосування вискоєфективної рідинної хроматографії [8, 9].

У періодичній літературі, починаючи з 1990 року, було опубліковано декілька оглядових статей, присвячених визначенню СА у продуктах харчування тваринного походження та біологічних зразках хроматографічними [10, 11], імунохімічними [13, 14] методами та методом капілярного електрофорезу [12], а також у деяких ЛП - фармакопейними методиками [15].

Оглядових статей, присвячених спектрофотометричним методам визначення СА, у науковій літературі нами не виявлено. Попри те, у двох публікаціях була зроблена спроба систематизувати та проаналізувати деякі спектрофотометричні методики визначення СА. У першій, яка вийшла з друку у 1976 році, міститься окремий розділ, підготований Н.П. Максютіною та співавторів, де наведені умови спектрофотометричного визначення восьми СА за власним поглинанням в УФ-ділянці спектру [16]. Автори навели, у формі таблиці, коротку методичну інформацію щодо умов визначення СА, узяті з шести наукових публікацій.

Ще одним літературним джерелом, де вибірково проаналізовані спектрофотометричні методики визначення СА, був задепонований рукопис російських авторів Чернової Р.К., Гусакової Н.Н., Борисової Г.М. та ін., що з'явився у 1990 році [17]. В огляді розглянуті літературні джерела, опубліковані у 1956–1989 рр. Більшість цитованих публікацій побачили світ у період з 1975 по 1985 рр. До того ж, за незначним винятком, це роботи радянських авторів. У цьому депонованому огляді автори наводять методики спектрофотометричного визначення вмісту СА у складі ЛП за власним світлопоглинанням в УФ-ділянці спектра та у видимій ділянці, не аналізуючи надану інформацію. Однак, багато спектрофотометричних методик визначення СА як у ЛП, так і у продуктах харчування та біологічних рідинах, що були опубліковані на час виходу цієї оглядової праці, цими авторами не розглядались.

Метою підготованого нами огляду було узагальнення вітчизняного та зарубіжного

досвіду використання спектрофотометрії в УФ- та видимій ділянках електромагнітного спектру для визначення вмісту СА у складі ЛП різних лікарських форм, біологічних рідин та продуктів харчування, систематизація різних аналітичних підходів для створення виконавцеві можливості вибору відповідних спектрофотометричних методик для аналізу цих об'єктів, виходячи з конкретного завдання та наявного апаратурного оформлення контрольно-аналітичних лабораторій.

Нами проаналізовано наукову літературу щодо методик спектрофотометричного визначення СА за період з 1937 по 2015 р.р. За цей час було опубліковано понад 140 наукових робіт, в яких описано визначення СА майже з 80 реагентами та близько 30 методик УФ-спектрофотометричного визначення СА. На рис.3(а) показана динаміка наукових публікацій щодо спектрофотометричного визначення СА за останні 90 років, а на рис.3(б) – за останні 15 років.

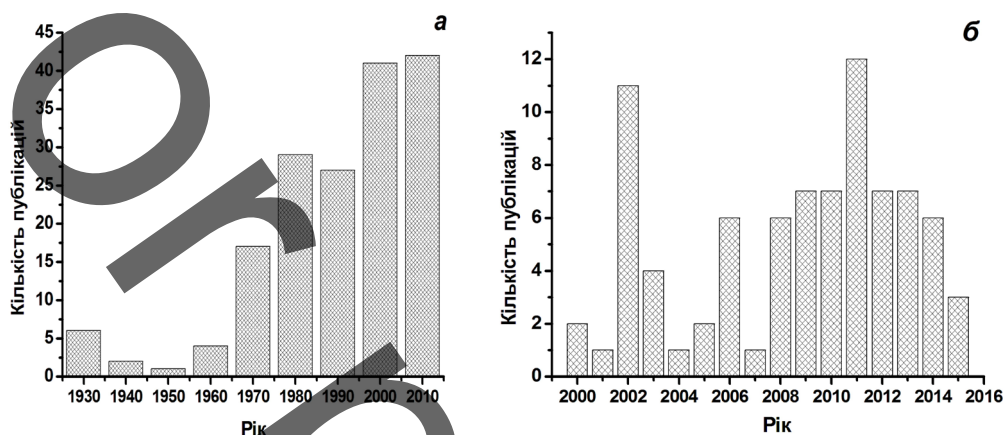


Рис.3. Динаміка наукових публікацій стосовно спектрофотометричного визначення СА за період 1930–2015 р.р. (а) та 2000–2015 р.р. (б).

З рис.3(а) видно, що кількість публікацій, які з'являлися впродовж останніх шестидесяти років зростала з кожним десятиліттям. Дані рис.3(б) вказують на приблизно однакову середню кількість публікацій кожного року за останні 10 років, за винятком 2007 та 2011 років. Така тенденція свідчить про популярність спектрофотометричного методу при визначенні СА, незважаючи на стрімкий розвиток чутливих і селективних хроматографічних та імунохімічних методів аналізу.

Перевагою спектрофотометричного методу є експресність і простота виконання, малі витрати зразку, достатньо висока чутливість, точність і специфічність, що часто дає можливість кількісно визначати аналіт без попереднього розділення інгредієнтів суміші. Це сприяє суттєвому спрощенню методик аналізу багатьох складних ліків, зменшенню вартості аналізу та збільшенню пропускної здатності контрольно-аналітичних лабораторій, у першу чергу, на підприємствах-виробниках.

Як свідчать дані літератури, на сьогодні розроблено багато різноманітних спектрофотометричних методик визначення СА. Однак, на фармацевтичному ринку не припиняється поява нових похідних САМ та нових ЛП, які містять СА в комбінації з іншими ЛР, що зумовлює постійне оновлення арсеналу аналітичних методик для забезпечення їхнього задовільного визначення у присутності інших біологічно активних сполук.

З іншого боку, загальні підходи щодо пошуку

аналітичних реагентів та розроблення методик визначення СА, зокрема спектрофотометричних, залишаються незмінними. Тому огляд спектрофотометричних методів визначення СА може бути корисним для аналітиків та фахівців фармацевтичної галузі, які працюють в напрямку визначення СА або їх структурних аналогів, зокрема у ЛП.

Загальна характеристика методик спектрофотометричного визначення СА

Спектрофотометричний метод першим почали використовувати для ідентифікації, а пізніше і кількісного визначення СА у різних об'єктах – ЛП та біологічних рідинах [18–25]. Оскільки більшість СА поглинають світло в УФ-ділянці спектру, пряма спектрофотометрія СА за власним поглинанням є досить поширеним методом, незважаючи на значні труднощі, що виникають при аналізі СА в багатьох об'єктах, пов'язаних з впливом сторонніх компонентів. Більшою селективністю характеризуються методики при застосуванні забарвлених аналітичних форм СА з максимумами світлопоглинання у видимій ділянці спектру, де мінімально поглинають інші компоненти лікарських форм СА. При цьому дуже важливими є умови проведення аналітичної реакції, оскільки перевагу матимуть простіші та експресніші методики. Тому основним завданням хіміків-аналітиків як в минулому, так і на сьогодні став пошук реагентів

та розробка на їх основі більш простих, експресних і водночас селективних та чутливих методик визначення СА.

Застосування СА в лікарській практиці почалося з використання CAM - найпростішого за своєю структурою. Вперше CAM почали визначати у сечі та сироватці крові у 30-х роках минулого століття спектрофотометричним методом за світлопоглинанням забарвленого продукту реакції азосполучення його діазосолей з N-(1-нафтил)-етиленадіаміном [18,19] у кислому середовищі або з β -нафтолом [20], хромотроповою кислотою [21] у лужному середовищі, за світлопоглинанням продукту конденсації з *l*-диметиламінобензальдегідом [22,23], натрій 1,2-нафтохінон сульфонатом [24]. Тоді ж було встановлено переваги та недоліки окремих методик, що у майбутньому визначило основні напрямки пошуку нових реагентів та способів визначення CAM, а також його похідних. Так, авторами [25] було встановлено, що вже 2-кратний надлишок вітаміну С заважає визначенню CAM з N-(1-нафтил)-етиленадіаміном, а 25-кратний надлишок повністю нівелює аналітичний сигнал реакції. Було також встановлено, що на аналітичний сигнал впливають сліди металів [19] та тіоціанати [22]. В той же час методика визначення CAM з таким реагентом, як *l*-диметиламінобензальдегідом характеризується простотою, експресністю та стабільністю аналітичного сигналу.

Пізніше вказані реагенти неодноразово були використані іншими науковцями для розробки методик визначення СА за подібних або інших умов аналітичних реакцій. На сьогодні існує близько сотні нових методик спектрофотометричного визначення СА за світлопоглинанням їх забарвлених аналітичних форм. Умовно ці методики можна поділити на дві підгрупи, які в свою чергу можна розділити ще на декілька підгруп, а саме:

- спектрофотометрія за власним поглинанням в УФ-ділянці спектру:
 - ✓ пряма;
 - ✓ диференційна;
 - ✓ похідна;
- спектрофотометрія забарвлених продуктів СА, які утворюються у реакціях:
 - ✓ комплексоутворення з органічними речовинами;
 - ✓ конденсації СА з альдегідами;
 - ✓ конденсації СА з продуктами окиснення органічних речовин;
 - ✓ нуклеофільного заміщення з хлорпохідними органічними сполуками;
 - ✓ азосполучення діазосолей СА з органічними сполуками, що містять аміно- та/або гідроксогрупи.

Методики прямого спектрофотометричного визначення СА за власним поглинанням в УФ-

ділянці спектру використовують при аналізі відносно простих об'єктів – чистих субстанцій ЛР та ЛП, за умови, що допоміжні речовини не впливають на аналітичний сигнал.

Методики спектрофотометричного визначення СА за забарвленими продуктами їх взаємодії з різними реагентами є складнішими, оскільки вимагають проведення аналітичної реакції, водночас є значно чутливішими та селективнішими, що є вкрай важливим при аналізі комбінованого ЛП або біологічної рідини.

СА, в структурі яких є *l*-електронодонорна аміногрупа, вступають в реакції комплексоутворення з аналітичними реагентами, що містять у своїй структурі π -електроноакцепторні групи. При їх взаємодії у водних, водно-органічних або полярних органічних середовищах утворюються забарвлені комплекси з перенесенням заряду за рахунок *l*- π -електронного переходу.

Завдяки наявності аміногрупи, СА здатні вступати у взаємодію з органічними сполуками, які містять карбонільну групу, зокрема альдегідами, з утворенням забарвлених основ Шиффа. Зазвичай, така конденсація відбувається у водних або водно-органічних середовищах впродовж певного часу. Проте, в загальному, методики розроблені на основі таких реакцій є досить простими у виконанні.

Після діазотування аміногрупи та перетворення у сіль діазонію, СА здатні вступати у реакцію електрофільного заміщення – азосполучення з ароматичними органічними речовинами з утворенням азо- або діазосполук. У цьому випадку значну роль відіграють замісники, що знаходяться в ароматичному кільці. Узгоджена орієнтація електрофільної частинки в одне положення призводить до утворення однієї сполуки з чітким максимумом світлопоглинання, зазвичай, значно вищим ніж власне поглинання як аналіту так і реагента. Тоді, як неузгоджена орієнтація призводить до азосполучення у різні положення ароматичного кільця та утворення кількох продуктів. Відповідно, на спектрі це відображається кількома максимумами, що накладаються, і такий сигнал неможливо використати як аналітичний. Незважаючи на двостадійність (діазотування СА та азосполучення) реакції, в основному, відбуваються у водному середовищі, не вимагають складних за будовою чи важкодоступних реагентів, до того ж методики розроблені на їх основі є досить чутливими.

Реакції конденсації СА з продуктами окиснення органічних речовин також є двостадійними, хоча і відбуваються в одному реакційному середовищі. Проте, в цьому випадку, на відміну від азосполучення, методики хоч і є простими у виконанні (всі компоненти реакційної суміші додаються послідовно), але хімічні процеси які відбуваються у реакційному середовищі є доволі складними. В одне реакційне середовище

вноситься аналіт, реагент і окисник практично одночасно, оскільки ідея методик полягає в тому, щоб окисник вступив у реакцію з реагентом, але при цьому не взаємодівав з аналітом. Але, навіть і в такому випадку, потрібно, щоб при окисненні реагенту не утворювались побічні продукти, або тільки один з утворених продуктів окисно-відновної взаємодії вступив у реакцію конденсації з СА, а побічні продукти не впливали на спектрофотометричні характеристики кінцевої аналітичної форми. Досягти таких умов, на нашу думку, вкрай важко, при тому, що явних переваг перед іншими групами, такі методики не мають.

Методики визначення СА на основі реакцій нуклеофільного заміщення серед усіх методик спектрофотометричного визначення СА є найменш чисельними, незважаючи на те, що вони є досить простими у виконанні, а за чутливістю співмірні з іншими методиками спектрофотометричного визначення СА.

В загальному, асортимент вибору методик для визначення СА є досить великим і різноманітним. Це дає можливість аналітику-практику обрати методику за певними критеріями залежно від концентрації матричних компонентів, необхідної чутливості, типу об'єкта. Необхідність розробки нових методик обумовлена появою нових похідних СА і зростанням вимог до якості ЛП і продуктів харчування.

Спектрофотометрія за власним поглинанням в УФ ділянці спектру

СА, як похідні сульфанілової кислоти, характеризуються значним світлопоглинанням в УФ-ділянці спектру при 245–280 нм, що обумовлено π – π^* -електронними переходами у ароматичних кільцях молекул СА. Залежно від кислотності середовища, можливе незначне зміщення максимумів світлопоглинання цих сполук. В методиках пропонується використання або водного середовища при нагріванні [26–31] або середовища 0.01–0.1 М хлоридної кислоти чи натрій гідроксиду [32–37] або водно-метанольної суміші [38] при кімнатній температурі. Методики, які ґрунтуються на власному поглинанні СА використовують для аналізу чистих субстанцій ЛР та однокомпонентних ЛП, за умови, що допоміжні речовини не заважають їх кількісному визначенню або використовують

екстракційне розділення. Розроблено методики визначення СА в очних плівках та мазах [26–28], таблетках, порошках та інших лікарських формах [29–35].

Використання методу диференційної спектрофотометрії описано лише в кількох публікаціях [39–41]. У цих роботах показано, що метод можна використати для аналізу двокомпонентних сумішей – двох СА або суміші СА з триметопримом чи пірилметаміном у таблетках. Очевидно, що такий підхід не набув популярності, оскільки використання даного методу допустиме лише в тих випадках, коли незмінним залишається світлопоглинання інших компонентів ЛП (як діючих так і допоміжних речовин).

Метод похідної спектрофотометрії за першою – четвертою похідними застосовують для визначення СА в однокомпонентних ЛП [42], суміші двох СА (найпоширеніше поєднання – САМ і СТЗ) [43], або у присутності інших біологічно активних речовин у комбінованих ЛП, найчастіше – триметоприму [44–55], пірилметаміну [56], а також у меді за наявності окситетрацикліну [57]. Авторами роботи [45] також розроблена методика сумісного визначення СМО і триметоприму за присутності гідроксипробіл- β -циклодекстрину методом диференційної спектрофотометрії за другою похідною. Застосування такого підходу до аналізу сприяє значному підвищенню селективності та чутливості визначення при аналізі біологічних об'єктів. Однак, суттєвим недоліком є необхідність додаткового програмного забезпечення до обладнання, яке є дорогим і тому, не завжди доступним.

Варто відмітити, що процедура валідації відповідно до вимог Європейської Фармакопеї, проведена лише для 4 методик [38, 40, 41, 52] та частково для 5 методик [49–51, 53, 55] з усіх розглянутих. При цьому, усі (частково чи повністю) валідовані методики опубліковані після 2006 року в іноземній періодичній літературі. Проте, відсутність такої інформації не означає, що інші опубліковані методики виявились не придатними для аналізу, оскільки процедура валідації прив'язана до конкретних лабораторій, приладів, виконавців тощо і, часто є внутрішньою нормативною документацією.

Детальніше методики визначення СА в УФ-ділянці спектру наведено у табл. 1.

Таблиця 1. Характеристика методик спектрофотометричного визначення СА за власним поглинанням в УФ-ділянці спектру.

Визначуваний СА	λ , нм	Межі лінійності, мкг/мл	Середовище	Література
1	2	3	4	5
СМП	262	-	водне	[26, 27]
САМ, САА, СГН, СТЗ, СММ, СМТ	253 – 283	2 – 20	водне	[28]

1	2	3	4	5
СМП	262	1 – 7.5		[29]
СТЗ, САМ, СГН, САА	257 – 285		водне (при нагріванні (температура не вказана))	[30]
СМТ, СТЗ	258 та 283	-		[31]
16 різних СА	250 – 270	0.1 – 25	0.1 М розчин натрій гідроксиду	[32]
СМР, СМТ	250 – 270	5 – 10	водне (при нагріванні (температура не вказана)) 0.1 М розчин натрій гідроксиду, 0.1 М розчин хлоридної кислоти	[33]
СМП, СДМ	262 – 270	2 – 10	0.01 М розчин натрій гідроксиду	[34]
САМ	265	-	0.1 М розчин натрій гідроксиду, 0.1 М розчин хлоридної кислоти	[35]
СТЗ	281	-	0.1 М розчин хлоридної кислоти	[36]
СДМ	268 272	0.4 – 1.4 0.2 – 0.8	0.1 М розчин натрій гідроксиду етанол	[37]
СДА	270	0.5 – 30	суміш метанол:вода (90:10)	[38]
СТЗ, САМ	287	1 – 20	0.1 М розчин натрій гідроксиду, 0.01 М розчин хлоридної кислоти	[39]
СМО	283	10 – 40	0.1 М розчин натрій гідроксиду	[40]
СДО	246 – 298	10 – 60	метанол	[41]
САА	258	0.25 – 50.8	водне	[42]
СТЗ, САМ	268 – 297	1 – 22	ацетатний буфер (рН 4.5), 10 % водний розчин етанолу	[43]
	280 – 294	1.6 – 45	метанол	[44]
	264	1.6 – 16.5	етанол	[45]
	257.9	250 – 350	0.1 М розчин хлоридної кислоти	[46]
	258	0.5 – 15	2 М ацетатний буфер (рН 4.29)	[47]
СМО	200 – 350	2 – 11	50 % водний розчин етанолу	[48]
	260 – 264	2 – 15	етанол	[49]
	200 – 400	2.0–15.0	суміш етанол:аміачний буфер (1:2.5) (рН 10)	[50]
	230 – 300	10 – 24	0.04 М розчин натрій гідроксиду	[51]
	283.6	1 – 10	метанол	[52]
СДА, СМТ, СМО, САМ	240 – 258	1 – 20	універсальна буферна суміш (рН 9.9)	[53]
СМО, СМП	287	0.3 – 15	аміачний буфер (рН 10.0), 8 % водний розчин етанолу	[54]
СМТ	259	2 – 20	суміш етанол:аміачний буфер(1:10)	[55]
СХК	241 – 396	1 – 35	0.5 М аміачний буфер (рН 10.0), 50 % водний розчин етанолу	[56]
СТЗ	274 – 314	3 – 35	ацетатний буфер (рН 3.8)	[57]
СМО	264	1.83 – 18.3	водне, 0.1 М розчин натрій гідроксиду або 0.1 М розчин хлоридної кислоти, розчин гідроксипропіл-β-циклодекстрину	[45]

Спектрофотометрія забарвлених продуктів СА

Окрім запропонованої вище класифікації спектрофотометричних методик визначення СА, у літературі описані методики, які важко віднести до жодної з вказаних груп через відсутність даних щодо хімізму взаємодії та природу утвореного забарвленого продукту в аналітичній реакції.

Для визначення СА використано давно відомі методики визначення білків з реактивом Фоліна-Чікольтеу (суміш молібденової, вольфрамової кислот та літій сульфату) [58, 59] та амінів з натрій 1,2-нафтохінон сульфонатом [59–61]. Обидві методики неселективні, оскільки забарвлений продукт утворюють всі аміни, і крім того, характеризуються доволі низькою чутливістю.

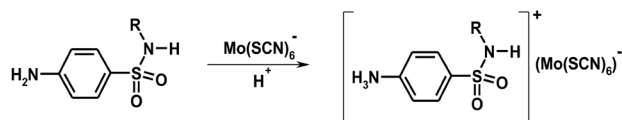
Визначення СА з *p*-бензохіноном проводять у водному середовищі при нагріванні реакційної суміші впродовж 10 хв при температурі 90 °C або 1 год при 65 °C [62]. З нітробарбітуровою кислотою СА взаємодіє в органічному середовищі при нагріванні на киплячій водяній бані з утворенням продукту жовтого кольору, величина світлопоглинання якого пропорційна концентрації аналіту [63]. Для методики характерні дуже вузькі межі лінійності.

Реакцію утворення гетероциклічного забарвленого продукту ацетилацетону та формальдегіду з СА покладено в основу методики визначення останніх [64]. Методика вимагає нагрівання реакційного середовища на водяній бані (40 °C) впродовж 25 хв, характеризується невисокою чутливістю.

Визначення СА з *N*-пара-толуенсульфоніл-2-хлор-1,4-нафтохіноніміном проводять у середовищі диметилсульфоксиду з нагріванням реакційної суміші на киплячій водяній бані впродовж 3 хв. Методика характеризується вузькими межами лінійності [65, 66]. Автори цих же робіт застосували для визначення СА у рідких лікарських формах без нагрівання ще два реагенти – *N*-тозил-2-(ацетилацетоніл-3')-1,4-нафтохінонімін в середовищі ацетону та 4-метоксибензоїлгідразон 2-ізобутил-1,4-нафтохінонімін в середовищі 1,4-діоксану в присутності амідопірину, новокаїну та глюкози [65]. Методики характеризуються низькою чутливістю.

Під дією хлораміну-Т утворюється забарвлений продукт хлорування СА, імовірно *N,N*-дихлоро-*p*-амінобензенсульфонамід, за світлопоглинанням якого визначають вміст СА [67]. Методика є малочутливою, а також вимагає нагрівання на водяній бані (50 °C) впродовж 1 год. або витримування реакційної суміші при кімнатній температурі впродовж 4 год.

Утворення забарвленого бінарного іонного асоціату СА з молібден(V) тіоціанатом, що екстрагується метилехлоридом, використано для екстракційно-спектрофотометричного визначення кількох СА [68]:



Методика характеризується невисокою чутливістю.

При взаємодії СА з основним барвником метиленовим голубим утворюється забарвлений іонний асоціат, який здатний до екстрагування метилехлоридом з водного середовища. Цю властивість використано для розробки екстракційно-фотометричного визначення СТЗ [69]. В іншому варіанті методики, автори [70] використовують твердофазну екстракцію (ТФЕ) – утворення іонного асоціату метиленового голубого з СДО на обернено-фазовій колонці C_{18} з наступним елююванням його метанолом. Методики характеризуються вищою чутливістю та селективністю відносно інших представників сульфамідного ряду.

Авторами роботи [71] запропонована методика кінетичного спектрофотометричного визначення СА за реакцією з калій перманганатом методом фіксованого часу за зменшенням світлопоглинання реагента при 526 нм або за збільшенням світлопоглинання відновленої форми – манганат-іону при 610 нм. Методику застосовано для визначення 17–278 мкг/мл СА в очних краплях.

Валідацію проведено для п'яти методик [59, 64, 68, 70, 71].

На рис. 4 представлена схема конденсації СА з 1,2-нафтохінон сульфонатом, *p*-бензохіноном, ацетилацетоном та формальдегідом. Умови взаємодії цих та інших реагентів детальніше наведені у табл. 2.

Спектрофотометрія забарвлених продуктів реакцій комплексоутворення СА з органічними реагентами

Для методик цієї групи характерна невисока чутливість. Найбільш чутливими є методики з використанням тетраціаноетилєну – 1 мкг/мл [72] та феносафраніну – 1,1 мкг/мл [73]. Тривалість аналізу також є високою через низьку швидкість аналітичних реакцій. Наприклад, при використанні хлоранільної кислоти, 7,7,8,8-тетраціанохіно-диметану та 2,3-дихлоро-5,6-диціано-1,4-бензохінону [74, 75] вона складає 30–40 хв.

Реакції з хлоранільною кислотою, *o*-хлоранілом або ангідробісіндандіоном-1,3 проводять в органічному середовищі, здебільшого ацетонітрилі [74], абсолютному етанолі [72, 76, 77] чи 1,4-діоксані [75, 78, 79]. В останньому випадку при нагріванні на киплячій водяній бані впродовж 15 хв [78, 79].

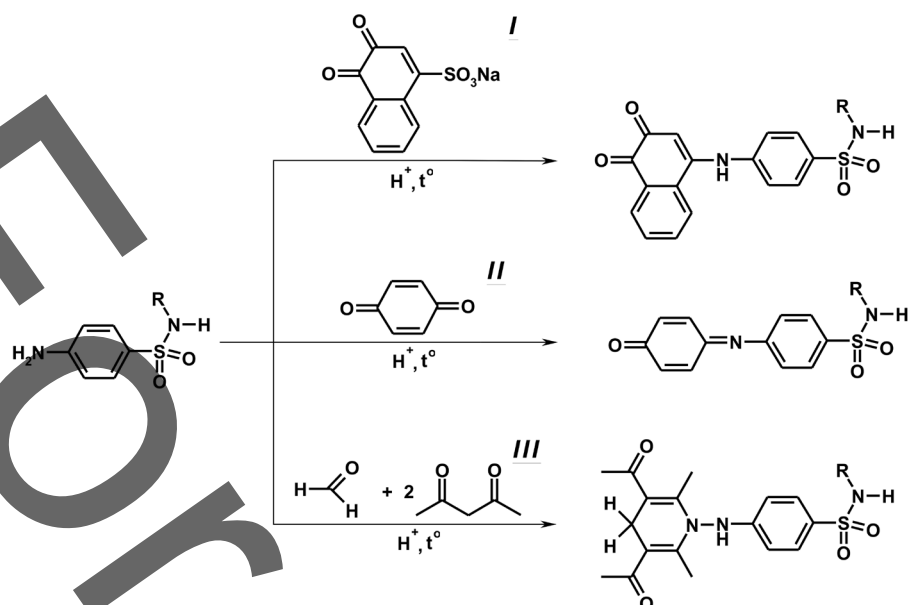


Рис. 4. Схема конденсації СА з 1,2-нафтохінон сульфонатом (I) [59], п-бензохіноном (II) [62], ацетил-ацетоном і формальдегідом (III) [64].

Таблиця 2. Характеристика методик спектрофотометричного визначення СА.

Реагент	Визначуваний СА	λ , нм	Межі лінійності, мкг/мл	Умови реакції	Літера-тура
1	2	3	4	5	6
Реактив Фоліна-Чікольтеу	СМО	760	5 – 25	розчин реагента (1:2 розведений водою), 4% розчин натрій карбонату	[58]
	САА	760	100 – 300	розчин реагента, 13% розчин натрій карбонату	[59]
Натрій 1,2-нафтохінон сульфонат	САА	466	5 – 30	0.25% розчин реагента, 0.05M розчин натрій гідроксиду	[59]
	САМ	-	1 – 20	0.1 M розчин хлоридної кислоти, 0.05% розчин реагента	[24]
	СТЗ, СКА, СЛН	485	5 – 40	1 M розчин ацетатної кислоти, 50-кратний надлишок реагента → витримують 3 хв на киплячій водяній бані	[60]
	СДА	480	90 – 200	0.0036% розчин реагента → витримують 10 хв на киплячій водяній бані	[61]
п-Бензохінон	13 СА	500	5 – 70	0.1 M розчин хлоридної кислоти → витримують 10 хв у водяній бані (90°C) або 1 год у водяній бані (65°C)	[62]
5-Нітробарбітурова кислота	10 СА	400	0.7 – 1.5	диметилформамід, 0.04% розчин реагента → витримують 3–7 хв на киплячій водяній бані	[63]

1	2	3	4	5	6
Ацетилацетон-формальдегід	CAA, CDA, CMT, CT3	400	4 – 80	суміш ацетилацетону та формальдегіду у 0.2М ацетатному буфері (pH 4.3) → витримують 25 хв на водяній бані (40°C)	[64]
N-п-Толуен-сульфоніл-2-хлор-1,4-нафтохінонімін		505	16 – 32	диметилсульфоксид, 0.04% розчин реагента → витримують 3 хв на киплячій водяній бані	[65, 66]
N-Тозил-2-(ацетилацетоніл-3')-1,4-нафтохінонімін	CT3	624	~ 40	ацетон, 0.004% розчин реагента	[66]
4-Метокси-бензоїл-гідразон 2-ізобутил-1,4-нафтохінонімін		445	~1000	1,4-діоксан, 0.032% розчин реагента	[66]
Хлорамін-Т	CAM, CФР, CDA, CAA	525	до 8000	фосфатний буфер (pH 7.4), 8% розчин реагента → витримують 1 год на водяній бані (50°C) або 4 год при кімнатній температурі	[67]
Молибден (V) тіоціанат	CMO, CGH, CXK, CML, CMT	470	5 – 50	2.5М розчин сульфатної кислоти, 0.004% розчин амоній молібдату, 0.8% розчин амоній тіоціанату, 0.1% розчин аскорбінової кислоти → витримують 15 хв → екстрагування метиленхлоридом	[68]
Метиленовий голубий	CT3	650	3.8 – 40	водний розчин, 4-кратний надлишок барвника, pH 9 → екстрагування метиленхлоридом	[69]
	CDO	522	10 – 50	нагрівання та перемішування суміші CDO та барвника впродовж 20 хв → осадження на ТФЕ-колонці C ₁₈ → вимивання метанолом	[70]
Калій перманганат	CAA, CAM, CMT	526, 610	17 – 278	0.01М розчин СА в 0.1М розчині натрій гідроксиду, 0.001 М розчин калій перманганату, 2М розчин натрій перхлорату → кінетичне спектрофотометричне визначення	[71]

Реакції СА з барвниками алізаринового ряду, такими як алізарин, хіналізарин, алізаринові синій та червний, проводять у водному середовищі з використанням понад 100-кратного надлишку аналітичного реагента. Для методик характерні невисокі чутливість, селективність (заважають глюкоза, лактоза, крохмаль та магній стеарат і

контрастність, яка не перевищує 40–50 нм [80, 81].

На рис.5 представлено схеми утворення комплексів з перенесенням заряду СА з 7,7,8,8-тетраціанохінодимером, хлоранільною кислотою та алізарином. Детальніші умови взаємодії цих та інших реагентів наведено у табл. 3.

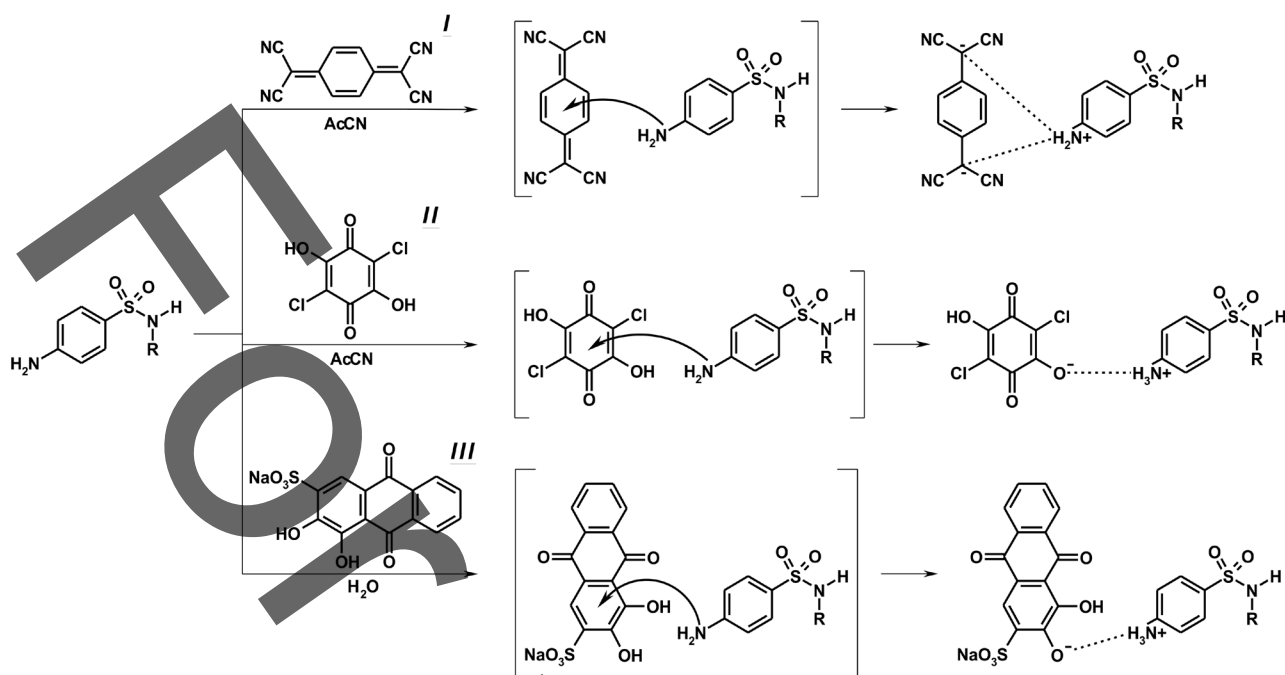


Рис. 5. Схема утворення комплексів з перенесенням заряду СА з 7,7,8,8-тетраціанохінодіметаном (I) [74], хлоранільною кислотою (II) [74, 76] та алізарином (III) [80, 81].

Таблиця 3. Характеристика методик спектрофотометричного визначення СА за реакціями комплексоутворення з органічними реагентами.

Реагент	Визначуваний СА	λ , нм	Межі лінійності, мкг/мл	Умови реакції	Літера-тура
1	2	3	4	5	6
Тетраціано-етилєн	CAA, CMO	355	1 – 30	2.5 · 10 ⁻³ М розчин натрій гідрокарбонату, 5 · 10 ⁻³ М розчин реагента в абс. етанолі → витримують 10 хв	[72]
Феносафранін	7 СА	273	1.1 – 16.7	3 · 10 ⁻⁵ М водний розчин реагента, 0.08 М ацетатний буферний розчин (рН 3.0)	[73]
7,7,8,8-Тетраціанохінодіметан	CMO, СГН, СХК, СМЛ, CMT	842	4 – 180	середовище ацетонітрилу, розчин реагента → витримують 40 хв	[74]
2,3-Дихлоро-5,6-диціано-1,4-бензохінон	CMO, СГН, СХК, CMT	455	4 – 280	середовище ацетонітрилу, розчин реагента → витримують 5–15 хв	
	СХК, CMT	515	4 – 380	середовище ацетонітрилу, розчин реагента → витримують 15 хв	[74]
Хлоранільна кислота	СДО	500	15 – 20	середовище 1,4-діоксану → витримують 30 хв	[75]
	CAA	530	10 – 60	середовище абс. етанолу, 2-кратний надлишок реагента → витримують 5 хв	[76]

1	2	3	4	5	6
o-Хлораніл	СМО	539	2 – 60	1.5·10 ⁻³ М розчин натрій карбонату, 1·10 ⁻³ М розчин реагента в абс. етанолі	[77]
Ангідро- бісіндан- діон-1,3 (біндон)	СЛН, СДА, СММ, СДМ	470	8 – 48	діоксан, насичений розчин реагента, рН~7 → витримують 15 хв на киплячій водяній бані	[78, 79]
Алізарин	СМО	510	10 – 110	буферний розчин (борна кислота, бутандіонова кислота, натрій сульфат, натрій тетраборат), 3.75% водний розчин етанолу, рН 8.5, 100-кратний надлишок барвника	[80]
Алізарин		450– 490	5 – 100	буферний розчин (борна кислота, бутандіонова кислота, натрій сульфат, натрій тетраборат), 25% водний розчин етанолу, рН 5.6–6.5, 150-кратний надлишок барвника → витримують 5 хв	
Алізариновий синій	СAA, СДЗ, СМТ, СГН, САМ, СТЗ	565– 605	5 – 70	буферний розчин (борна кислота, бутандіонова кислота, натрій сульфат, натрій тетраборат), 25% водний розчин етанолу, рН 2.0–2.5, 1.5-кратний надлишок барвника → витримують 5 хв	[81]
Алізариновий червоний		445– 470	5 – 100	буферний розчин (борна кислота, бутандіонова кислота, натрій сульфат, натрій тетраборат), 25% водний розчин етанолу, рН 7.0–8.0, 1.5-кратний надлишок барвника → витримують 5 хв	
Хіналізарин	СAA, СДЗ, СМТ, СГН, САМ, СТЗ	490– 640	5 – 120	буферний розчин (борна кислота, бутандіонова кислота, натрій сульфат, натрій тетраборат), 25% водний розчин етанолу, рН 7.5–8.5, 150-кратний надлишок барвника → витримують 5 хв	[81]
	СМО	555	10 – 110	буферний розчин (борна кислота, бутандіонова кислота, натрій сульфат, натрій тетраборат), 3.75% водний розчин етанолу, рН 8.5, 100-кратний надлишок барвника	[80]

Спектрофотометрія забарвлених продуктів реакції конденсації СА з альдегідами

Для визначення СА знайшли застосування реакції їх конденсації з такими альдегідами, як *p*-диметиламінобензальдегід, саліциловий альдегід, ванілін [82], *o*-фталевий альдегід [83] та *p*-диметиламінокоричний альдегід [84], *p*-диметиламінокоричний альдегід у присутності натрій додецилсульфату (SDS) [85, 86]. Позитивною стороною цих методик є одностадійність реакції, недоліками – необхідність проведення реакцій у

середовищі високотоксичних та дорогих органічних розчинників, низька експресивність.

Реакції відбуваються у водному середовищі (при нагріванні на киплячій водяній бані впродовж 60 хв) [22, 23], у водно-метанольному середовищі (при нагріванні впродовж 10 хв при температурі 60–70 °С) [82], а також у водно-етанольному середовищі [83] або в середовищі ацетонітрилу [84].

Для підвищення селективності та чутливості автори роботи [85] додатково пропонують вводити в реакційне середовище SDS. В роботі

[86] комплекс, що утворився вилучають на оберненофазовій ТФЕ-колонці C_{18} , з наступним елюванням і детектуванням за реакцією з *p*-диметиламінокоричним альдегідом. Найнижчою межею визначення ($MB = 50$ нг/мл) характеризується методика з використанням *p*-диметиламінокоричного альдегіду у присутності SDS [85]. Чутливість інших методик цієї групи

коливається в межах 5–10 мкг/мл. Валідацію двох методик цієї групи описано у роботах [82] та [85].

На рис.6 представлено схему взаємодії СА з саліциловим альдегідом, ваніліном, *p*-диметиламінобензальдегідом та *p*-диметиламінокоричним альдегідом. У табл.4 наведено умови взаємодії цих та інших реагентів з СА детальніше.

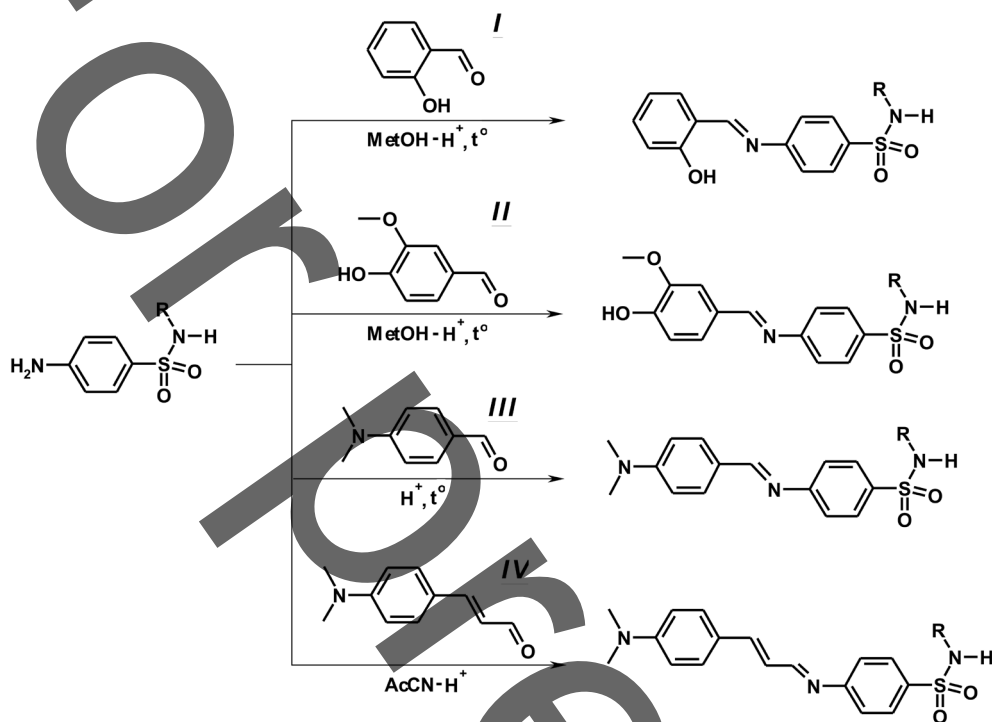


Рис.6. Схема взаємодії СА з саліциловим альдегідом (I) [82], ваніліном (II) [82], *p*-диметиламінобензальдегідом (III) [82] та *p*-диметиламінокоричним альдегідом (IV) [84, 85].

Таблиця 4. Характеристика методик спектрофотометричного визначення СА за реакціями конденсації з альдегідами.

Реагент	Визначуваний СА	λ , нм	Межі лінійності, мкг/мл	Умови реакції	Література
1	2	3	4	5	6
<i>p</i> -Диметил-амінобензальдегід	CAM	540	500 – 1200	цитратний буфер, 2% розчин реагента → витримують 1 год на киплячій водяній бані	[22]
		-	5 – 115	водне середовище	[23]
	CMO	445	5 – 40	хлоридно-кислий метанол, 1.5% розчин реагента в метанолі → витримують 5–10 хв на водяній бані (60–70°C) → витримують 10 хв	[82]
Саліциловий альдегід	CMO	415	10 – 70	хлоридно-кислий метанол, 3% розчин реагента в метанолі → витримують 5–10 хв на водяній бані (60–70°C) → витримують 10 хв	[82]

1	2	3	4	5	6
Ванілін	СМО	421	5 – 50	хлоридно-кислий метанол, 5% розчин реагента в метанолі → витримують 5–10 хв на водяній бані (60–70°C) → витримують 10 хв	[82]
о-Фталевий альдегід	СДА, САМ, СМО	340	10 – 24	1·10 ⁻³ М розчин реагента в етанолі, 0.4 % водний розчин тіолу, боратний буфер (рН 10)	[83]
	САМ, СМП, СХД, СМО, СМТ	540	0.3 – 5.6	ацетонітрил: вода = 90:10, 0.02 М розчин хлоридної кислоти, 10 ⁻³ М розчин реагента → витримують 15 хв	[84]
п-Диметил-амінокоричний альдегід	8 СА	540	0.05 – 6.0	цитратний буферний розчин (рН 2–4), ~1·10 ⁻⁴ М розчин реагента, 1·10 ⁻² М розчин SDS	[85]
	СДО	560	5 – 100	екстрагування комплексу СДО з SDS на ТФЕ-колону С ₁₈ → розчин реагента у 2 М розчині хлоридної кислоти, екстракт СДО в 0.05 М розчині SDS в 0.01 М розчині натрій гідроксиду → витримують 5 хв	[86]

Спектрофотометрія забарвлених продуктів реакцій конденсації СА з продуктами окиснення органічних речовин

В основі методик цієї групи лежить трикомпонентна реакційна система, що включає дві послідовні стадії – окисно-відновної взаємодії між реагентом та окисником та конденсації окисненої форми з СА з утворенням забарвлених продуктів.

Як окисники використовують неорганічні солі ферум (III) хлорид та амоній ферум (III) сульфат, амоній церій (IV) сульфат, калій періодат і калій дихромат привизначенні СА з 3-метилбензотіазолін-2-он гідразом [59, 87], трифлюороперазином [88], N,N-діетил-п-фенілендіамін сульфаматом [89] та 4-N-метиламінофенолом [90], відповідно. Реакції відбуваються у водному середовищі. Найбільш чутливою (МВ = 50 нг/мл) є методика із застосуванням системи N,N-діетил-п-фенілендіамін сульфамат – калій періодат при нагріванні на водяній бані (60 °C) впродовж 10 хв.

Авторами роботи [91] розроблено два варіанти методики визначення СА з фенотіазином, одна – екстракційно-фотометрична за світлопоглинанням продукту взаємодії у присутності купрум ацетату, інша – за світлопоглинанням продукту їхньої взаємодії у присутності натрій гіпохлориту як окисника. Для обох методик характерні однакові межі лінійності. Збільшення чутливості у 10 разів досягається при використанні як окисників бензоїл пероксиду [92] або N-бромсукцинамиду [93].

Натрій гіпохлорит як окисник використовують у методиках разом з прометазином [94] та фенолом [95]. Реакція СА з прометазином є досить чутливою, проте відносно тривалою (25 хв), методика з використанням фенолу вимагає нагрівання впродовж 10 хв на водяній бані при температурі 45 °C.

Запропоновано чутливі і прості у виконанні методики з використанням систем хлорамін-Т – галоціанін [96] та натрій нітроприсид – гідроген пероксид [97, 98]. Проте, перша методика не є вибірковою щодо амінокислот та інших біологічно активних амінів, а друга методика ще і до іонів металів.

Авторами роботи [99] запропонована методика за реакцією утворення забарвленого комплексу «берлінської блакиті» Fe₄[Fe(CN)₆]₃. На першій стадії СА відновлює Fe(III) до Fe(II), який, своєю чергою, вступає у реакцію з калій гексаціанофератом (III). Основним недоліком її є низька вибірковість щодо відновників та іонів металів.

Чотири з розглянутих методик були валідовані в повній мірі [59, 88, 89, 92], а чотири – частково [87, 93, 94, 99].

На рис.7 наведено схему взаємодії СА з 3-метилбензотіазолін-2-он гідразом, N,N-діетил-п-фенілендіамін сульфаматом, фенотіазином. Умови взаємодії цих та інших реагентів детальніше вказано у табл. 5.

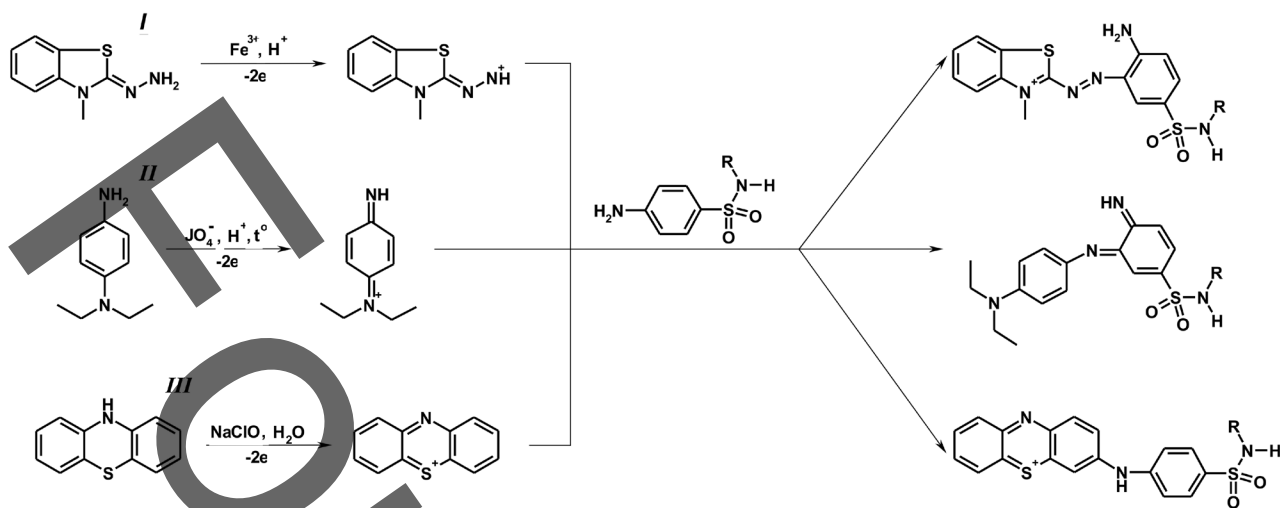


Рис. 7. Схема взаємодії СА з 3-метилбензотіазолін-2-он гідразоном (I) [59, 87], N,N-діетил-*p*-фенілендіамін сульфаматом (II) [89] та фенотіазіном (III) [91].

Таблиця 5. Характеристика методик спектрофотометричного визначення СА за реакціями конденсації з продуктами окиснення органічних речовин.

Реагент+окисник	Визначуваний СА	λ , нм	Межі лінійності, мкг/мл	Умови реакції	Література
1	2	3	4	5	6
3-Метил-2-бензотіазолін-2-он гідразон + ферум (III) хлорид	CAA	562	10 – 50	0.25% розчин 3-метил-2-бензотіазолін-2-он гідразону, 0.5% розчин ферум (III) хлориду → витримують 20 хв	[59]
3-Метилбензотіазолін-2-он гідразон + амоній ферум (III) сульфат	CAM, СГН, CAA, СДА, СМТ, СМР	565–620	5 – 100	0.075M розчин хлоридної кислоти, 0.0875% водний розчин 3-метил-2-бензотіазолін-2-он гідразону, 1% розчин амоній ферум (III) сульфату → витримують 30 хв	[87]
Трифлюоперазин + амоній церій (IV) сульфат	CAA	560	1 – 22	$6 \cdot 10^{-4}$ M розчин трифлюоперазину → витримують 3 хв → $4.8 \cdot 10^{-4}$ M розчин амоній церій сульфату	[88]
N,N-Діетил- <i>p</i> -фенілендіамін сульфамат + калій періодат	СМО, СДА	550	2 – 25	0.01M розчин хлоридної кислоти, $4.75 \cdot 10^{-4}$ M водний розчин N,N-діетил- <i>p</i> -фенілендіамін сульфамату, $1.7 \cdot 10^{-4}$ M розчин калій періодату → витримують 10 хв на водяній бані (60°C)	[89]
4-N-Метил-амінофенол + калій дихромат	CAM, CAA, СДА, СТЗ, СПД, СМО, СФР, СФН	530	0.05 – 20	0.1M розчин хлоридної кислоти, 0.028% розчин калій дихромату, 0.04% розчин 4-N-метиламінофенолу в 0.005M розчині хлоридної кислоти	[90]

1	2	3	4	5	6
Фенотіазин + купрум (II) ацетат		515	4 – 40	у присутності купрум ацетату при температурі 70°C → екстрагування хлороформом	[91]
Фенотіазин + натрій гіпохлорит	8 СА	515	4 – 40	водно-спиртовий розчин фенотіазину у присутності натрій гіпохлориту	[91]
Фенотіазин + бензоїл пероксид		614	від 0.3	6·10 ⁻⁵ М водно-спиртовий розчин фенотіазину, 5·10 ⁻⁴ М розчин бензоїл пероксиду, 0.5М розчин сульфатної кислоти	[92]
Фенотіазин + N-бромсукцинамід	9 СА	605	0.3 – 20	фосфатний буфер (рН 6), розчини фенотіазину та N-бромсукцинамиду, водно-метанольне середовище → витримують 10 хв	[93]
Прометазин + натрій гіпохлорит	7 СА	610	0.4 – 9.6	0.14% розчин ацетатної кислоти, 0.02% водний розчин прометазину, розчин натрій гіпохлориту → витримують 25 хв	[94]
Фенол + натрій гіпохлорит	СГН	450	-	0.75% розчин фенолу та 0.2% розчин натрій гіпохлориту, 0.5М розчин натрій гідроксиду → витримують 10 хв на водяній бані (45°C)	[95]
Хлорамін-Т + галоціанін	СМО	540	0.2 – 16	0.25М розчин хлоридної кислоти, розчин хлораміну-Т → витримують 15 хв → розчин галоціаніну → витримують 5 хв	[96]
Натрій нітропрусид + гідроген пероксид	СГН	670	0.1 – 0.5	розчин натрій гідроксиду (рН 11), розчин натрій нітропрусиду, 3% розчин гідроген пероксиду → витримують 3–4 хв на водяній бані (80°C)	[97, 98]
Ферум (III) хлорид + калій фериціанід	СМО	720	4 – 20	0.125% розчин калій фериціаніду, 0.25% розчин ферум (III) хлориду → витримують 10 хв	[99]

Спектрофотометрія забарвлених продуктів реакції нуклеофільного заміщення з хлорпохідними органічними сполуками

Для визначення СА за реакціями цього типу використовують 5 реагентів – два похідних бенз-2,1,3-оксадіазолу [100] та три похідних хлоракридину [101–103]. Реакції відбуваються у водно-ацетонітрильному або водно-етанольному середовищі. Методики з використанням

4-хлор-5,7-динітробензофуразану та 7-хлор-4,6-динітробензофураксану характеризуються високою чутливістю (МВ=0.5 мкг/мл). У випадку похідних хлоракридину досягаються широкі межі лінійності – 2–112 мкг/мл.

На рис.8 представлена схема взаємодії СА з 7-хлор-4,6-динітробензофураксаном та 9-хлоракридином. Детальніші умови взаємодії цих та інших реагентів наведено у табл.6.

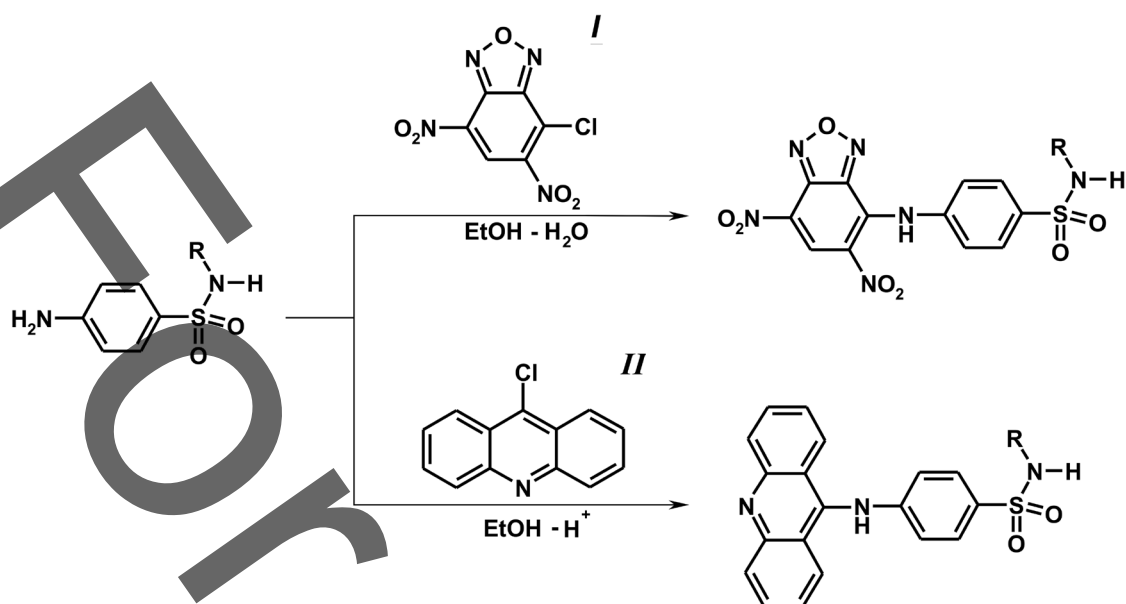


Рис. 8. Схема взаємодії СА з 7-хлор-4,6-динітробензофуроксаном (I) [100] та 9-хлоракридином (II) [102, 103].

Таблиця 6. Характеристика методик спектрофотометричного визначення СА за реакціями нуклеофільного заміщення з хлорпохідними органічними сполуками.

Реагент	Визначуваний СА	λ , нм	Межі лінійності, мкг/мл	Умови реакції	Літера-тура
1	2	3	4	5	6
4-Хлор-5,7-динітро-бензофуразан	СТЗ, СМТ, СЕД, СМП, СДМ, САА, СЛН, СГН	495	0,5 – 6	етанол:фосфатний буфер=30:70 (рН 6.5–7.0), розчин реагента в ацетонітрилі	[100]
7-Хлор-4,6-динітро-бензофуроксан		495	0,5 – 6		
9-Хлорактидин	СМЗ, СМП, СФР	435	$\sim 10^{-6}$ М	водно-етанольне середовище, рН 4 $\rightarrow$ витримують 5 хв	[101]
	САМ, СКА, СТЗ, СМТ, СЕД, СГН, САА	434	4 – 112	водно-етанольне середовище, рН 1.5 $\rightarrow$ витримують 25 хв	
2,9-Дихлорактидин			2 – 112	водно-етанольне середовище, рН 1.5 $\rightarrow$ витримують 15 хв	[102, 103]
2-Нітро-9-хлора-кридин	САМ, СКА, СТЗ, СМТ, СЕД, СГН, САА	434	2 – 80	водно-етанольне середовище, рН 1.5 $\rightarrow$ витримують 10 хв	

Спектрофотометрія забарвлених продуктів реакцій азосполучення діазосолей СА з органічними аміно- та/або гідроксовмісними реагентами

Методики на основі реакцій азосполучення діазосолей СА з аміно- та/або гідроксовмісними

органічними реагентами об'єднуються в одну з найбільших груп. Реакції є двостадійними, відносно повільними, однак відбуваються у водному середовищі і не потребують використання складних реагентів. Одним з недоліків цих методик є необхідність проведення реакції діазотування СА у досить агресивному середовищі (10М HCl [108],

$10\text{M}\text{H}_2\text{SO}_4$ [111]) і необхідність руйнування надлишку натрій нітриту. Для діазотування найчастіше використовують хлоридну та сульфатну кислоти, але також, відомі методики з використанням ортофосфатної [109] та ацетатної [114] кислот або їх суміші [128]. Надлишок натрій нітриту пропонують руйнувати амоній сульфамом, сульфаміною кислотою або сечовиною. Більшість авторів пропонує проводити реакцію при температурі 0°C . Щодо реакцій азосполучення, то їх проводять або в кислому середовищі з використанням реагентів N-(1-нафтил)-етилендіаміну [59, 104–107], імінобензилу [108], примахін фосфату [109], аніліну [110], дифеніламіну [104, 106, 111], орцинолу [58], допаміну [112], 3-амінофенолу [113, 114], або в лужному – з використанням салбутамолу [115], гістидину [116], β -нафтолу [107, 117–119], пірогалолу [120], 3- α , β -дикарбоксиетилпропаніну [121], етил-ацетоацетату [122], 8-гідроксихіноліну [123, 124], γ -резорцинової [125] та хромотропової [104, 126–129] кислот. З резорцином [99, 104, 106, 130] та 2-ацетилбутиролактоном [122] реакцію азосполучення з діазосіллю СА проводять як в кислому, так і в лужному середовищах. У деяких випадках необхідно проводити нагрівання реакційного середовища на киплячій водяній бані впродовж 4–5 хв [111, 113] або при температурі 60°C впродовж 50 хв [119]. Автори роботи [131] для

підвищення чутливості (20 нг/мл) та селективності пропонують вилучати забарвлений продукт діазосолі СА з флуороглюцином на ТФЕ-колонці C_{18} .

Автори роботи [107] застосували методику Браттон-Маршала (азосполучення діазосолей СА з N-(1-нафтил)-етилендіаміну) для диференційного спектрофотометричного визначення СА за другою – четвертою похідними в сечі та меді. Такий підхід дав можливість підвищити чутливість та селективність відомої методики.

При визначенні СА за реакцією азосполучення не заважають типові матричні компоненти – крохмаль, глюкоза, целюлоза, стеарати, тальк. Проте, відсутня інформація щодо селективності визначення цих аналітів у присутності біологічно-активних речовин (антибіотиків, вітамінів), за винятком триметоприму [111]. Методики характеризуються високою чутливістю ($\text{MB} = 40$ нг/мл) [106, 112, 113, 131]), відносною простотою та експресністю. Їх використовують для аналізу готових лікарських форм та біологічних рідин.

З 41 методики валідовано 10 методик та частково валідовано – 12.

На рис.9 представлена схема взаємодії СА з N-(1-нафтил)-етилендіаміном, імінобензилом, 3-амінофенолом та 8-гідроксихіноліном.

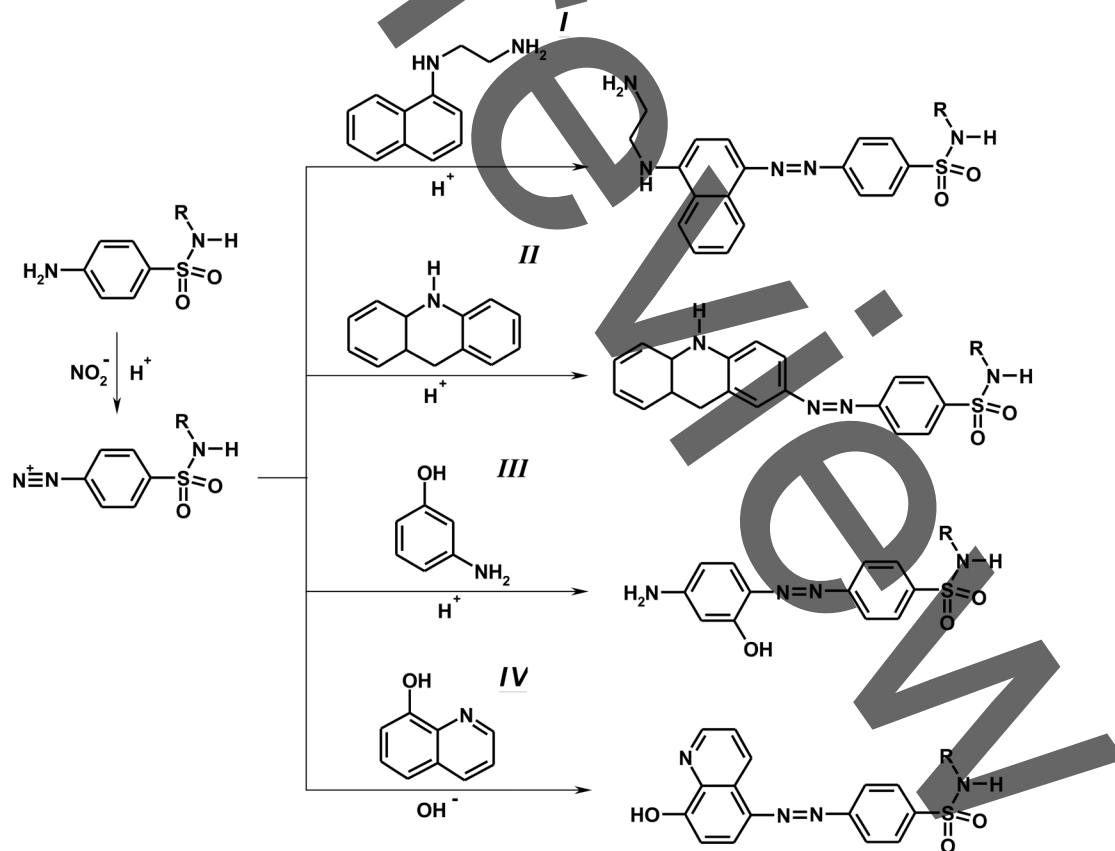


Рис.9. Схема взаємодії СА з N-(1-нафтил)-етилендіаміном (I) [59, 104, 106], імінобензилом (II) [108], 3-амінофенолом (III) [113] та 8-гідроксихіноліном (IV) [128].

Спектрофотометрія продуктів реакцій СА з моноазобарвниками та гетероциклічними азосполуками

Окремої уваги заслуговує група гідроксо-заміщених азосполук, зокрема кислотного моноазобарвника тропеоліну О (ТрО) [132–135] та гетероциклічних азосполук 4-(2-піридилазо)-резорцину (ПАР) [136, 137] і 4-(2-тіазолілазо)-резорцину (ТАР) [138], як реагентів для визначення СА за світлопоглинанням нітрозодіазосполук, які утворюються при взаємодії їх із діазосолями СА. Світлопоглинання продуктів реєстрували при $\lambda_{\text{max}} = (590\text{--}620)$ нм [132, 136, 138].

Деякі *o,o'*-дигідроксизаміщені моноазобарвники (еріохром чорний Т (ЕЧТ) [139], еріохром синьо-

чорний R (ЕЧ R) [140] та еріохром синій SE (ЕС SE) [141]) було запропоновано для визначення СА за світлопоглинанням азосполук, які утворюються в результаті окисно-відновної взаємодії між діазосіллю СА та барвником, яка супроводжується з розривом азогрупи останнього та азосполученням діазосолю з продуктами, що утворились при окисненні ЕЧТ, ЕЧ R та ЕС SE (α -нафтолом, β -нафтолом та хромotropовою кислотою, відповідно). Реєстрацію світлопоглинання здійснюють при 475 нм, 485 нм та 380 нм, відповідно [139–141].

На рис. 10 та 11 представлено схеми взаємодії СА з моноазобарвниками та гетероциклічними азосполуками.

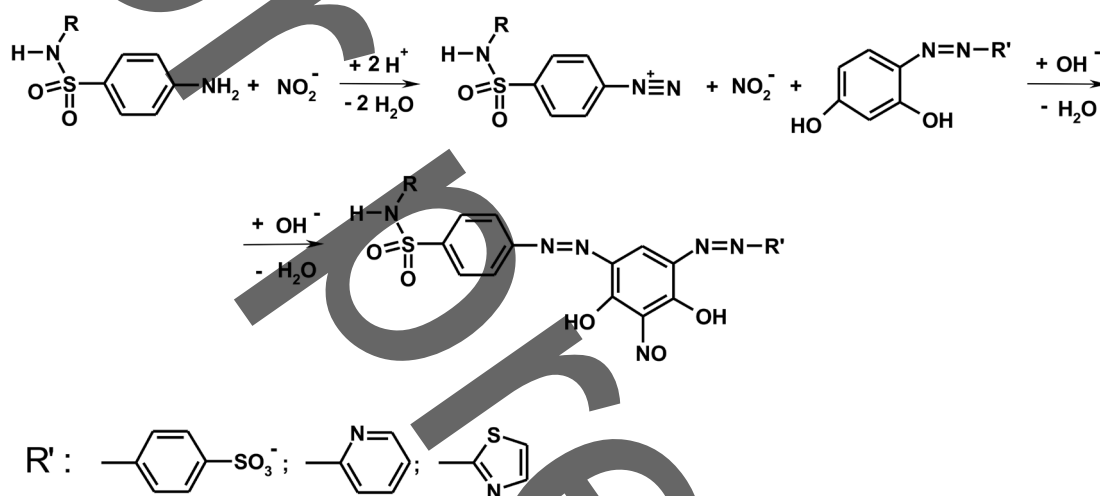


Рис. 10. Схема взаємодії діазосолей СА з азобарвником ТрО та гетероциклічними азосполуками ПАР, ТАР [132, 136, 138].

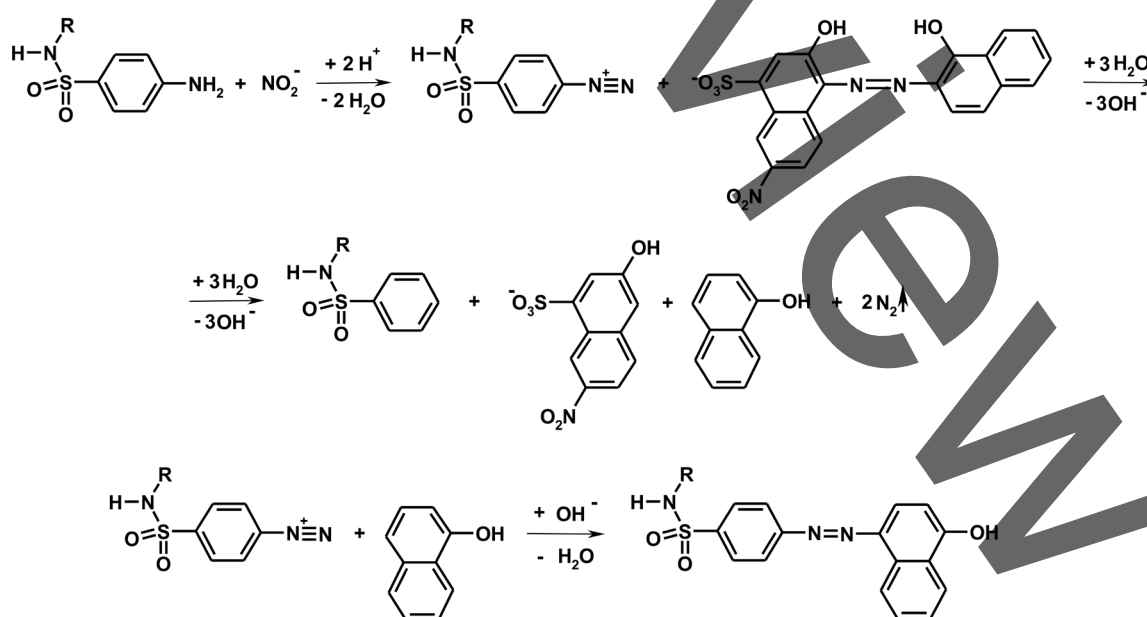


Рис. 11. Схема взаємодії діазосолей СА з моноазобарвником ЕЧТ [139–141].

Методики з використанням ТрО, ПАР та ТАР характеризуються високою чутливістю ($MV=0.4$ мкг/мл) та селективністю відносно різних класів біологічно активних (вітамінів, кортикостероїдів, бактеріостатиків, антибіотиків пеніцилінового, тетрациклінового, аміноглікозидного, фторхінолонового рядів та макролідів) і допоміжних речовин (неорганічних та органічних солей натрію, кальцію, магнію, моно- та полісахаридів, багатоатомних спиртів, органічних кислот). Методики з *o,o'*-дигідроксизаміщеними азобарвниками також є досить чутливими ($MV=3$ мкг/мл) та селективними відносно триметоприму, бензилпеніциліну, стрептоміцину, преднізолону та йодоформу, однак дещо тривалішими в часі. У табл. 7 детальніше вказано умови визначення СА за реакцією азосполучення з органічними сполуками, що містять аміно- та/або гідроксогрупи, а також характеристики розроблених методик.

В роботах [138–141] вивчено чутливість визначення десяти СА з досліджуваними азореагентами залежно від природи замісника і показано, що ефективні молярні коефіцієнти світлопоглинання продуктів аналітичної реакції зменшуються в ряду з $TrO > PAR > TAR > ECT > ECHR > ECSE$. Гетероцикли у молекулах СА є електронодонорними групами, які впливають на інтенсивність світлопоглинання продуктів азосполучення і,

залежно від гетероатома, виявляють різний вплив. У ряду гетероатомів $S \geq O > N$ електронодонорний вплив гетероциклічних угруповань зменшується [142]. Чутливість визначення СА, до структури яких входить по два електроно-донорних замісники, є вищою порівняно із СА, що містять по одному такому заміснику в гетероциклі. На світлопоглинання продуктів взаємодії діазосолей СА з азореагентами впливає також і будова самих азореагентів, які також вносять свій вклад у хромофорну систему діазобарвників. Нижча чутливість визначення СА з *o,o'*-дигідроксизаміщеними азобарвниками, можливо, пов'язана з утворенням продуктів, хромофорна система яких містить менше спряжених зв'язків у порівнянні з продуктами, утвореними при взаємодії діазосолей СА з ТрО, ПАР та ТАР.

Розроблені методики з усіма азореагентами застосовано для аналізу одно- та багатокомпонентних ЛП. Зокрема, методики з використанням ТрО та ПАР, було апробовано при аналізі сироватки крові на вміст СТЗ після антибактеріальної терапії [143]. Крім того, проведено валідацію розроблених методик для випадків визначення окремих СА у кількох багатокомпонентних ветеринарних препаратах з ТАР [138], ТрО [144] та ЕЧТ [145], що підтверджує придатність розроблених методик для аналізу ЛП.

Таблиця 7. Характеристика методик спектрофотометричного визначення СА за реакціями азосполучення їх діазосолей з органічними сполуками, що містять аміно- та/або гідроксогрупи.

Реагент	Визначуваний СА	λ , нм	Межі лінійності, мкг/мл	Умови реакції	Література
1	2	3	4	5	6
N-(1-Нафтил)-етиленадіамін	CAM	545	20 – 80	0.2M розчин хлоридної кислоти, 0.01M розчин натрій нітриту, 0.05% розчин амоній сульфамату → 0.1% розчин реагента	[18, 19]
	CAA	530	1 – 3	2.5M розчин хлоридної кислоти, 0.05% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв → 0.17% розчин амоній сульфамату → 0.025% водний розчин реагента	[59]
	CDO	536	1 – 5	1M розчин хлоридної кислоти, 0.05% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв → 0.07% розчин сульфамінової кислоти, 0.01% водний розчин реагента	[104]
	CDA	542	0.5 – 50	in situ приготування натрій нітриту (з 0.01M калій нітрату під дією порошкового кадмію), 0.2M розчин хлоридної кислоти → $3.9 \cdot 10^{-3}$ M розчин реагента	[105]
	CT3	545	1.2 – 6.2	1M розчин хлоридної кислоти, 0.01% розчин натрій нітриту → витримують 10 хв → 0.08% розчин амоній сульфамату → витримують 2 хв → 0.007% водний розчин реагента	[107]

1	2	3	4	5	6
Іміно-бензил	СТЗ, СДА, САА, СМО, СМР, СГН, СМТ	575	0.05 – 6.0	10М розчин сульфатної кислоти, 0.1% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв → 0.3% розчин сульфамінової кислоти → витримують 5 хв → 0.06% розчин реагента → витримують 10 хв	[108]
Примахін фосфат	САА, СДА, СМТ, СГН, СМР, СМО, СХК, СТЗ	468 – 474	0.1 – 12	0.2М розчин ортофосфорної кислоти, 0.04% розчин натрій нітриту → витримують 3 хв → 0.35% розчин амоній сульфамату → витримують 3 хв → 0.025% водний розчин реагента → витримують 5 хв	[109]
Анілін	СТЗ	480	2 – 10	10М розчин хлоридної кислоти, 0.007% розчин натрій нітриту → 2.5% розчин реагента у 50% метанолі → витримують 4 хв на киплячій водяній бані	[110]
	СДО	524	5 – 25	0.5М розчин хлоридної кислоти, 0.02% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв → 0.05% розчин сульфамінової кислоти, 0.0075% розчин реагента в етанолі	[104]
Дифеніл-амін	СМО	516	2 – 10	1М розчин хлоридної кислоти, 0.05% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв при температурі 0°C → 0.07% розчин сульфамінової кислоти → 0.0075% розчин реагента	[106]
	СМО	530	0.5 – 12	0.1М розчин хлоридної кислоти, 0.01% розчин натрій нітриту → 0.1% розчин сульфамінової кислоти → 0.125% розчин реагента в метанолі → витримують 10 хв → 3.6 М розчин хлоридної кислоти	[111]
Орцинол	СМО	390	2 – 10	2.5% розчин хлоридної кислоти, 0.25% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв при температурі 0°C → 0.02% водний розчин реагента → витримують 5 хв	[58]
Допамін	СТЗ, СДА, САА, СМО, СМР, СГН, СМТ	495	0.04 – 8.0	0.8М розчин хлоридної кислоти, 0.17% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв → 0.5% сульфамінової кислоти → витримують 5 хв → 0.07% водний розчин реагента → 0.4% розчин натрій молібдату → витримують 5 хв	[112]
3-Аміно-фенол	СТЗ, СДА, САА, СМО, СМР, СГН, СМТ	460	0.05 – 8.0	2.5М розчин хлоридної кислоти, 0.2% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв при температурі 0°C → 0.5% сульфамінової кислоти → витримують 5 хв → 0.4% водний розчин реагента → витримують 5 хв на киплячій водяній бані	[113]
	СМТ	457	0.2 – 6.0	0.2М розчин ацетатної кислоти, 0.05% розчин натрій нітриту → витримують 2 хв → 0.2% сульфамінової кислоти → витримують 5 хв → 0.15% водний розчин реагента, 0.1 М розчин хлоридної кислоти	[114]
Сальбу-тамол	СМО	452	2.5 – 87.5	0.5М розчин хлоридної кислоти, 0.5% розчин натрій нітриту → 0.3% розчин реагента в етанолі → 0.1М розчин натрій гідроксиду	[115]
Гістидин	СДА	423	0.4 – 9.6	0.35М розчин хлоридної кислоти, 0.1% розчин натрій нітриту → витримують 1 хв → 0.1% сульфамінової кислоти → витримують 2 хв → 0.008% водний розчин реагента → 0.08М розчин натрій гідроксиду → витримують 5 хв	[116]

1	2	3	4	5	6
	CAM	-	10 – 40	розчин хлоридної кислоти, розчин натрій нітриту → витримують 5 хв при температурі 0°C → лужний розчин реагентав каустичній соді	[20]
	СМО	477	5 – 25	1 М розчин хлоридної кислоти, 0.05% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв при температурі 0°C → 0.07% сульфамінової кислоти → 0.02% водний розчин реагента → 2% розчин натрій гідроксиду	[106]
β-Нафтол	CAM	445	2 – 20	1 М розчин хлоридної кислоти, 0.1 М розчин натрій нітриту → водний розчин реагента → витримують 15 хв	[117]
	СДО	470	4 – 60	1 М розчин хлоридної кислоти, 0.05 М розчин натрій нітриту → витримують 2 хв → 0.04 М водний розчин реагента → витримують 10 хв	[118]
	СМО	482	20 – 130	1 М розчин хлоридної кислоти, 0.03 М розчин натрій нітриту → витримують 5 хв при температурі 0°C → 100 мг сульфамінової кислоти → витримують 2 хв → 0.1 М водний розчин реагента → витримують 50 хв на водяній бані (60°C)	[119]
Пірогалол	CAA, CAM, CMP, CMT, CT3, CDA	420	0.4 – 14	0.075 М розчин хлоридної кислоти, 0.05% розчин натрій нітриту → витримують 3 хв → 1% розчин сечовини → витримують 5 хв → 2·10 ⁻⁴ М розчин реагента в абс. етанолі → 0.014 М розчин натрій карбонату → витримують 5 хв	[120]
3-α,β-Дикарбокси-етилроданін	СЕД, СГН, CMT, CAM, CT3, СКА	410	20 – 120	0.1 М розчин хлоридної кислоти, 0.1% розчин натрій нітриту → витримують 2–3 хв → 0.1% розчин реагента, боратний буфер (pH 12)	[121]
2-Ацетилбутиролактон	СДА, СМО, СМК, СМЛ	532	4 – 24	суміш 1.0 М розчину ортофосфорної і 0.5 М розчину ацетатної кислот (1:1), 0.5% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв при температурі 0°C → 0.6% розчин реагента в 0.6 М розчині натрій гідроксиду → витримують 25 хв	[122]
		532	0.2 – 2.0	суміш 1.0 М розчину ортофосфатної і 0.5 М розчину ацетатної кислот (1:1), 0.5% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв при температурі 0°C → 0.6% розчин реагента (pH 2) → витримують 20 хв	
Етилацетоацетат	СДА, СМО, СМК, СМЛ	416	1.6 – 10	суміш 1.0 М розчину ортофосфорної і 0.5 М розчину ацетатної кислот (1:1), 0.5% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв при температурі 0°C → 1.6% розчин реагента в 1.0 М розчині натрій гідроксиду → витримують 25 хв	
8-Гідроксинолін	CAA, CDA, СГН, CMP, CMT, СМО	500	0.1 – 7.0	3 М розчин сульфатної кислоти, 0.3% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв → 0.8% сульфамінової кислоти → витримують 5 хв → 0.04% розчин реагента → 0.4 М розчин натрій гідроксиду (pH=9–10)	[123]
	9 СА	500	2 – 40	2.5% розчин хлоридної кислоти, 0.75% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв при температурі 0°C → 0.04% розчин реагента, водно-спиртове середовище (pH 9–10)	[124]
γ-Резорцинова кислота	СДА	458	0.4 – 12	1 М розчин хлоридної кислоти, 1% розчин натрій нітриту → витримують 1 хв → 3% сульфамінової кислоти → витримують 1 хв → 0.1% водний розчин реагента → 1 М розчин натрій гідроксиду	[125]

1	2	3	4	5	6
Хромотропова кислота	CAM	-	10 – 20	~0.02M розчин хлоридної кислоти, 0.01% розчин натрій нітриту → витримують 3 хв → 0.125% розчин натрій карбонату, водний розчин реагента	[21]
	СДО	520	5 – 25	0.5M розчин хлоридної кислоти, 0.02% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв → 0.05% розчин сульфамінової кислоти, 0.03% водний розчин реагента, 2% розчин натрій гідроксиду	[104]
	CAM, CT3, CMT, СЕД	530	0.5 – 20	розчин хлоридної кислоти, 0.1% розчин натрій нітриту → витримують 1 хв при температурі 0°C → 0.3% водний розчин реагента у присутності натрій карбонату	[126, 127]
	СМО	513	0.5 – 20	0.25M розчин хлоридної кислоти, 0.025% розчин натрій нітриту (0°C) → 0.2% сульфамінової кислоти → 0.15% водний розчин реагента, 0.03M розчин натрій гідроксиду → витримують 10 хв	[128]
	CAA	511.5	0.5 – 20	0.25M розчин хлоридної кислоти, 0.025% розчин натрій нітриту (0°C) → 0.2% сульфамінової кислоти → 0.2% водний розчин реагента, 0.015M розчин натрій гідроксиду → витримують 10 хв	[129]
Резорцин	СМО	430	2 – 10	2.5M розчин хлоридної кислоти, 0.5% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв при температурі 0°C → 0.02% водний розчин реагента → витримують 5 хв	[99]
	СДО	496	4.0 – 8.0	0.5M розчин хлоридної кислоти, 0.05% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв → 0.07% розчин сульфамінової кислоти, 0.07% водний розчин реагента, 2% розчин натрій гідроксиду	[104]
	СМО	502	1 – 5	1M розчин хлоридної кислоти, 0.05% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв при температурі 0°C → 0.07% розчин сульфамінової кислоти → 0.025% водний розчин реагента → 2% розчин натрій гідроксиду	[106]
	CAM, СМО, СДА, CAA	500	0.25 – 7.0	10M розчин сульфатної кислоти, 1% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв → 2% сульфамінової кислоти → витримують 5 хв → 0.1% водний розчин реагента → витримують 5 хв	[130]
Флуороглюцин	СМО, CAA, СДА	420	0.02 – 10	3.3M розчин сульфатної кислоти, 0.013% розчин натрій нітриту → витримують 5 хв при температурі 0°C → 1% розчин сульфамінової кислоти → 0.1% водний розчин реагента → осадження на ТФЕ-колонці C ₁₈ → вимивання метанолом	[131]
Тропеолін О		595	0.2 – 14.0	0.25M розчин хлоридної кислоти, ~10 ⁻⁴ M розчин натрій нітриту → витримують 20 хв → ~10 ⁻⁴ M водний розчин реагента → 0.01M розчин натрій тетраборату, pH 10.5	[132-135]
4-(2-Піридилазо)-резорцин	СМО, CT3, CMT, CMP, СДМ, СДА, СМП, СММ, СГН, CAM	590	0.5 – 20.0	0.25M розчин хлоридної кислоти, ~10 ⁻⁴ M розчин натрій нітриту → витримують 20 хв → ~10 ⁻⁴ M водний розчин реагента → 0.01M розчин натрій тетраборату, pH 11.0	[136, 137]
4-(2-Тіазолілазо)-резорцин		615	0.5 – 30.0	0.5M розчин хлоридної кислоти, ~10 ⁻⁴ M розчин натрій нітриту → витримують 20 хв → ~10 ⁻⁴ M водний розчин реагента → 0.01M розчин натрій тетраборату, pH 9.5	[138]

1	2	3	4	5	6
Еріохром чорний Т		475	3.0 – 64.0	0.5М розчин хлоридної кислоти, $\sim 10^{-4}$ М розчин натрій нітриту $\rightarrow$ витримують 20 хв $\rightarrow \sim 10^{-2}$ М розчин сечовини $\rightarrow$ витримують 10 хв $\rightarrow \sim 10^{-4}$ М водний розчин барвника $\rightarrow$ 0.01 М розчин натрій тетраборату, pH 8.0	[139]
Еріохром синьо-чорний R	СМО, СТЗ, СМТ, СМР, СДМ, СДА, СМП, СММ,	485	6.0 – 64.0		[140]
Еріохром синій SE	СГН, САМ	380	14.0 – 80.0	0.5М розчин хлоридної кислоти, $\sim 10^{-4}$ М розчин натрій нітриту $\rightarrow$ витримують 20 хв $\rightarrow \sim 10^{-2}$ М розчин сечовини $\rightarrow$ витримують 10 хв $\rightarrow \sim 10^{-4}$ М водний розчин барвника $\rightarrow$ 0.01 М розчин натрій тетраборату, pH 7.5	[141]

Висновки

Для аналізу СА у складі ЛР або одно-компонентних ЛП використовують спектрофотометрію за власним поглинанням в УФ-ділянці спектру. Застосування диференційної спектрофотометрії дозволяє значно підвищити селективність методик і тому їх застосовують, в основному, для кількісного визначення СА у присутності триметоприму в комбінованих ЛП.

В основі більшості більш чутливих спектрофотометричних методик визначення СА лежать реакції утворення їх забарвлених аналітичних форм. Одностадійними є аналітичні реакції нуклеофільного заміщення, утворення комплексів з перенесенням заряду та основ Шиффа. Двостадійними є аналітичні реакції конденсації СА з продуктами окисно-відновної взаємодії та азосполучення діазосолей СА з органічними сполуками, що містять аміно- та/або гідроксогрупи. Їхньою перевагою є використання водного середовища та доступність реагентів.

Найвищою чутливістю (40–50 нг/мл) характеризуються методики з використанням *п*-диметиламінокоричного альдегіду, 4-*N*-метиламінофенолу і калій дихромату, імінобензилу, допаміну та 3-амінофенолу.

Аналіз даних літератури показав, що різні автори при застосуванні одних і тих самих реагентів не посилаються на роботи своїх попередників. Так, з *N*-(1-нафтил)-етилендіаміном розроблено шість методик в період з 1939 р по 2013 р., з хромотроповою кислотою (2010 – 2014 рр..) та β -нафтолом (1937 – 2010 рр..) – п'ять, з резорцином (2002 – 2010 рр..) – чотири, які в своїх групах практично не відрізняються за умовами

взаємодії з СА, за незначним винятком, у випадках використання *N*-(1-нафтил)-етилендіаміну. Крім того, у багатьох публікаціях відсутня інформація про заважаючий вплив сторонніх супутніх речовин на визначення СА.

Група методик з використанням тропеоліну О, еріохром чорного Т, еріохром синьо-чорного R та еріохром синього SE, а також 4-(2-піридилазо) резорцину та 4-(2-тіазолілазо) резорцину є селективними відносно багатьох біологічно-активних (вітамінів, кортикостероїдів, бактеріостатиків, антибіотиків пеніцилінового, тетрациклінового, аміноглікозидного, фторхінолонового рядів та макролідів) та допоміжних (неорганічних та органічних солей натрію, кальцію, магнію, моно- та полісахаридів, багатоатомних спиртів, органічних кислот) речовин, а також характеризуються доволі високою чутливістю ($\epsilon_{\lambda} \sim 10^4$ л·моль⁻¹·см⁻¹).

Незважаючи на великий асортимент спектрофотометричних методик визначення і розмаїття об'єктів аналізу лише близько чверті описаних у літературі методик є валідованими.

Подальший розвиток спектрофотометричного методу визначення СА спрямований на пошук більш чутливих і селективних аналітичних реакцій, особливо відносно компонентів ЛП, складників біологічних рідин, а також їх метаболітів в організмах тварин і людей, а також спрощення, скорочення тривалості та зменшення собівартості аналізу.

Подяка

Автори висловлюють вдячність д.х.н. професорові М.Є. Блажесевському та д.х.н. професорові М.В. Ніколенку за підтримку ідеї написання статті та обговорення її змісту.

Література

1. Беликов В.Г. Фармацевтическая химия. В 2 ч. Учебное пособие. 4-е изд., перераб. и доп. Москва: МЕДпресс-информ, 2007. С. 309–311.
2. Ятусевич А.И., Толкач Н.Г., Ятусевич И.А., Панковец Е.А. Лекарственные средства в ветеринарии. Справочник. Минск, 2006. С. 114–122.
3. The Merck Index. 11-th, N.J., USA: Merck&Co., Inc., 1989. P. 8871–8917.
4. Арзамасцев А.П. Фармацевтическая химия: Учеб. Пособие. Москва: ГОЭТАР-МЕД, 2004. С. 316–331.
5. Белоусов Ю.Б. Клиническая фармакология. Руководство для врачей – изд. 2-е испр. и доп. / Ю.Б. Белоусов, В.С. Моисеев, В.К. Лепяхин. – М.: Универсум Паблишинг, 1997. – 531 с.
6. Державна Фармакопея України: в 3 т. ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків, 2014, 2015.
7. European Pharmacopoeia (Eur. Ph.). 8-th Ed. Strasbourg: Council of Europe, 2016.
8. The British Pharmacopoeia (BP), Intern. Ed. London: H.M. Stationary Office, 2013.
9. United States Pharmacopoeia, USP 40-NF35 Convention Inc., Rockville, : The United States Pharmacopoeial Convention, 2016.
10. Agarwal V.K. High-performance liquid chromatographic methods for the determination of sulfonamides in tissue, milk and eggs. Review. *J. Chromatogr. A*, 1992, 624(1–2), 411–423.
11. Wang S., Zhang H.Y., Wang L., Duan. Z.J., Kennedy I. Analysis of sulphonamide residues in edible animal products: A review. *Food Addit. Contam.*, 2006, 23(4), 362–384.
12. Garcia-Campana A.M., Gamiz-Gracia L., Lara F.J., Del Olmo Iruela M., Cruces-Blanco C. Applications of capillary electrophoresis to the determination of antibiotics in food and environmental samples. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2009, 395(4), 967–986.
13. Pastor-Navarro N., Maquieira A., Puchades R. Review on immunoanalytical determination of tetracycline and sulfonamide residues in edible products: a review. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2009, 395(4), 907–920.
14. Нестеренко И.С., Нокель М.А., Еремін С.А. Иммунохимические методы определения сульфаниламидных препаратов. Обзор. *Журн. аналит. хим.*, 2009., 64(5), 1–20.
15. Триус Н.В., Чичиро В.Е., Боковикова Т.Н., Гойзман М.С., Качмар Й., Качмарова Й. Анализ и стандартизация сульфаниламидных препаратов. Обзор. *Хим.-фарм. журнал*, 1991, 2, 72–75.
16. Максютин Н.П., Каган Ф.Е., Митченко Ф.А., Кириченко Л.А., Коет Т.А. Анализ фармацевтических препаратов и лекарственных форм. Киев: Здоров'я, 1976. С. 112.
17. Чернова Р.К., Гусакова Н.Н., Борисова Г.М., Масько Л.И., Легошина С.Г. Современное состояние аналитической химии сульфаниламидных препаратов. Саратов: Сарат. ун-т., 1990. 158 с.
18. Bratton A.C., Marshall E.K. A new coupling component for sulfanilamide determination. *J. Biol. Chem.*, 1939, 128, 537–550.
19. Marshall E.K. Determination of sulfanilamide in blood and urine. *J. Biol. Chem.*, 1937, 122, 263–273.
20. Fuller A.T. Is *p*-aminobenzenesulphonamide the active agent in prontosil therapy? *The Lancet*, 1937, 229(5917), 194–198.
21. Scudi J.V. The determination of sulfanilamide (*p*-aminobenzenesulfonamide) in biological media. *J. Biol. Chem.*, 1937, 122, 539–547.
22. Morris C.J.O. The determination of sulphanilamide and its derivatives. *Biochem. J.*, 1941, 35(8–9), 952–959.
23. Werner A.E.A. Estimation of sulphanilamide in biological fluids. *The Lancet*, 1939, 233(6019), 18–20.
24. Schmidt E.G. The determination of sulfanilamide in tungstic acid blood filtrates by means of sodium 2-naphthoquinone-4-sulfonate. *J. Biol. Chem.*, 1937, 126, 757–762.
25. Karel L., Chapman C.W. The effect of vitamin C on the determination of sulfanilamide. *J. Biol. Chem.*, 1944, 155, 27–32.
26. Чичиро В.Е., Арзамасцев А.П., Суранова А.В., Триус Н.В., Лутцева Н.И., Евдокимова В.В., Герасимова Г.А. Анализ глазных пленок сложного состава. *Хим.-фарм. журнал*, 1983, 11, 1389–1394.
27. Чичиро В.Е., Арзамасцев А.П., Триус Н.В., Суранова А.В., Лутцева И.И., Евдокимова В.В. Разработка методов анализа глазных пленок, содержащих сульфамидазин натрия. *Хим.-фарм. журнал*, 1982, 3, 109–112.
28. Атия М.А., Иванова Л.А., Некрасов В.И. Количественное определение гидрокортизона ацетата и сульфамидазина натрия в глазных мазях. *Фармация*, 1978, 27(2), 52–53.
29. Каган Ф.Г. Спектрофотометричний метод аналізу сульфаниламідних препаратів у лікарських формах. *Фарм. журнал*, 1966, 6, 14–17.
30. Беликов В.Г., Степанюк С.Н., Байкова Г.Ф. Унифікація спектрофотометричного аналізу сульфаниламідних препаратів. *Фармация*, 1980, 29(3), 37–40.
31. Тираспольская С.Г., Назарова Л.Е., Скибина В.В. Анализ лекарственных форм, содержащих сульфаниламидные препараты и димедрол. *Фармация*, 1984, 33(1), 67–69.
32. Sadagopa Ramanujam V.M., Netkal Made Gowda M., Norman Trieff M., Legator Marvin S. Ultraviolet spectrophotometric assay of *p*-aminobenzenesulfonamides. *Microchem. J.*, 1980, 25(3), 295–300.
33. Рапапорт Л.И., Шах Ц.И. Спектрофотометрический метод анализа сульфаниламидных препаратов. Киев: Здоров'я, 1976. С. 112.

тричне визначення сульфамеразину і сульфадимезину. *Фарм. журнал*, 1966, 6, 22–27.

34. Чичиро В.Е., Семейкина Л.А. Спектрофотометрическое определение сулфапиридазина и сульфадиметоксина в таблетках. *Фармация*, 1970, 19(4), 43–45.

35. Чичиро В.Е., Арзамасцев А.П., Триус Н.В., Суранова А.В., Садчикова Н.П. Использование УФ-спектров для идентификации сульфаниламидных препаратов. *Хим.-фарм. журнал*, 1981, 9, 106–111.

36. Белоусова Г.М., Прохоренко М.Д., Каганский М.М. Спектрофотометрическое определение норсульфазола в реакционной массе. *Хим.-фарм. журнал*, 1971, 10, 51–53.

37. Шумейко В.А., Гринь В.О. Спектрофотометричне кількісне визначення сульфадиметоксину. *Фарм. журнал*, 1976, 3, 75–76.

38. Vandana K., Kumar Dash A., Kothapalli U., Shiva Kishore T., Harika L., Kumar Pradhan K. Method development and validation of sulphadiazine in bulk and pharmaceutical dosage form by UV-spectrophotometric method. *Int. J. Pharm. Biol. Arch.*, 2011, 2(4), 1167–1171.

39. Мелентьева Г.А., Тыжигирова В.В. Использование ΔЕ-метода дифференциальной спектрофотометрии для анализа смесей сульфаниламидных препаратов. *Фармация*, 1982, 31(5), 26–29.

40. Alatas F., Wulansari D. The development and validation spectrophotometric method for simultaneous determination sulfamethoxazole and trimethoprim in tablet by continuous wavelet transform. *Proceeding of the International Seminar on Chemistry*, 2008, 389–392.

41. Meena S., Sandhya S.M. Validated spectrophotometric methods for simultaneous analysis of pyrilmethamine and sulphadoxine in pharmaceutical dosage forms. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, 2013, 6(3), 121–123.

42. Al-Nuri I.J., Al-Obaydi I.A. Direct determination of sulfacetamide sodium by derivative UV spectrophotometry. *J. Raf. Sci.*, 2009, 20(4), 17–26.

43. Berzas Nevado J.J., Salinas F., De Orbe Paya I., Capitan-Vallveyes L.F. Simultaneous determination of sulphathiazole and sulphanilamide in pharmaceuticals by derivative spectrophotometry. *J. Pharm. Biomed.*, 1991, 9(2), 117–122.

44. Othman S. Multicomponent derivative of sulfamethoxazole and spectroscopic analysis trimethoprim. *Int. J. Pharm.*, 1990, 63(2), 173–176.

45. Granero G., Garnero C., Longhi M. Second derivative spectrophotometric determination of trimethoprim and sulfamethoxazole in the presence of hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HP-β-CD). *J. Pharm. Biomed.*, 2002, 29(1–2), 51–59.

46. Medina J.R., Miranda M., Hurtado M., Dominguez-Ramirez A.M., Ruiz-Segura J.C. Simultaneous determination of trimethoprim and sulfamethoxazole

in immediate-release oral dosage forms by first-order derivative spectroscopy: application to dissolution studies. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 2013, 5(4), 505–510.

47. Nalewajko E., Moreno Galvez A., Gomez Benito C., Martinez Calatayud J. FIA and batch simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in pharmaceutical formulation by derivative spectrophotometry. *J. Flow Injection Anal.*, 2003, 20(1), 75–80.

48. Hismiogullario S.E., Yarsan E. Spectrophotometric determination and stability studies of sulfamethoxazole and trimethoprim in oral suspension by classical least square calibration method. Hacettepe University. *J. Fac. Pharm.*, 2009, 29(2), 95–104.

49. Sohrabi M.R., Fathabadi M., Nouri A.H. Simultaneous spectrophotometric determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in pharmaceutical preparations by using multivariate calibration methods. *J. App. Chem. Res.*, 2010, 3(12), 47–52.

50. Goodarzi M., Shahbazikhah P., Sohrabi M.R., Fathabadi M., Nouri S.H. Direct orthogonal signal correction-partial least squares for simultaneous spectrophotometric determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in pharmaceutical formulation and synthetic samples. *J. Chil. Chem. Soc.*, 2009, 54(3), 309–313.

51. Ribone M.E., Pagani A.P., Goicoechea H.C., Oliveira A.C. Simultaneous determination of two antibiotics in tablets by spectrophotometry and principal component regression (PCR) analysis. An advanced undergraduate experiment involving chemometrics. *Chem. Educator*, 2000, 5(5), 236–241.

52. Pushpa Latha E., Nagendra Kumar Gupta CV, Abiram L. Spectrophotometric quantitation of sulfamethoxazole in bulk drugs and pharmaceutical formulation using multivariate technique. *Int. Res J. Pharm. App. Sci.*, 2011, 1(1), 61–67.

53. Ni Y., Qi Z., Kokot S. Simultaneous ultraviolet-spectrophotometric determination of sulfonamides by multivariate calibration approaches. *Chemometr. Intell. Lab. Systems*, 2006, 82, 241–247.

54. Lopez-Martinez L., Lopez-de-Alba P.L., De-Leon-Rodriguez L.M., Yepez-Murrieta M.L. Simultaneous determination of binary mixtures of trimethoprim and sulfamethoxazole or sulphamethoxy-pyridazine by the bivariate calibration spectrophotometric method. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2002, 30(1), 77–85.

55. Zimmer L., Czarneski W. Derivative spectrophotometric method for simultaneous determination of sulfadimidine and trimethoprim. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska. Lublin-Polonia. Section DDD*, 2010, 23(1), 27–36.

56. Berzas Nevado J.J., Lemus Gallego J.M., Castareda Peaálvo G. Spectral ratio derivative spectrophotometric determination of sulphaquinoxaline and pyrimethamine in veterinary formulations. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1993, 11(7), 601–607.

57. Salinas F., Mansilla A.E., Berzas Nevado J.J. Simultaneous determination of sulfathiazole and oxytetracycline in honey by derivative spectrophotometry. *Microchem. J.*, 1991, 43(3), 244–252.
58. Vivaja Raja G., Bala Sekaran C., Winnie Teja D., Madhuri B., Jajasree B. Simple spectrophotometric methods for the determination of sulfamethaxazole in pharmaceuticals using folincioal-teau and orcinol as reagents. *E-J. Chem.*, 2009, 6(2), 357–360.
59. Nagamalleswari G., Phaneendra D., Prabakar A.E., Suresh P.V., Ramarao N. New colorimetric method development and validation of sulfacetamide in bulk and formulation by different analytical reagents. *Int. J. Adv. Pharm. Anal.*, 2013, 3(2), 30–36.
60. Филиппова С.А., Стрелец Л.Н., Петренко В.В., Буряк В.П. Количественное определение сульфаниламидных препаратов. *Фармация*, 1987, 36(8), 39–41.
61. Amal H., Demir S. Reaction of sulfadiazine with sodium 1,2-naphthoquinone-4-sulfonate. *J. Fac. Pharm. Istanbul*, 1968, 4, 28–30.
62. Mohamed A.M.I., Askal H.F., Saleh G.A. Use of *p*-benzoquinone for the spectrophotometric determination of certain sulphonamides. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1991, 9(7), 531–538.
63. Садивский В.М., Петренко В.В. Спектрофотометрическое определение некоторых первичных ароматических аминов в заводских лекарственных формах. *Фармация*, 1993, 42(3), 53–54.
64. Amin A.S., Zareh M.M. Acetylacetone-formaldehyde reagent for the spectrophotometric determination of some sulfa drugs in pure and dosage forms. *Mikrochim. Acta*, 1996, 124(3–4), 227–233.
65. Пат. 1559273, Россия, МПК 51, G01N 21/78. Способ количественного определения норсульфазола-натрия. Соломонова С.Г., Рыбалка Н.Г., Артемченко С.С., Кейтлин И.М., Петренко В.В., Сириченко О.В. Опубл. 23.04.1990, Бюл. №15.
66. Артемченко С.С., Соломонова С.Г., Петренко В.В., Кейтлин И.М., Баранова Н.В. Методика спектрофотометричного визначення норсульфазол-натрію в лікарських формах. *Фарм. журнал*, 1990, 10, 66–67.
67. Norman M.T., Sadagopa Ramanujam V.M., Cantelli G.F. Assay of *p*-aminobenzenesulphonamides with chloramine-T. *Talanta*, 1977, 24(3), 188–190.
68. Nour El-Dien F.A., Mohamed G.G., Khaled E., Frag E.Y.Z. Extractive spectrophotometric determination of sulphonamide drugs in pure and pharmaceutical preparations through ion-pair formation with molybdenum(V) thiocyanate in acidic medium. *J. Adv. Res.*, 2010, 1, 215–220.
69. Вартанян С.В., Галоян К.А., Хачатрян А.Г. Экстракционно-фотометрическое определение норсульфазола основным красителем метиленовым голубым. *Ученые записки Ереванского Государственного университета*, 2008, 1, 85–89.
70. Sharma S., Sharma M.C. Determination of sulfadoxine in pharmaceutical formulations by dual wavelength spectrophotometry using Methylene blue. *American-Eurasian J. Sci. Res.*, 2011, 6(4), 205–209.
71. Betageri V.S., Kulkarni R.M., Shivaprasad K.H., Shivshankar L.M. Kinetic spectrophotometric determination of sulfa drugs in pharmaceutical formulations. *Der Pharma Chemica*, 2011, 3(2), 227–235.
72. Al-Taei O.A. Spectrophotometric determination of sulfacetamide and sulfamethaxazole in aqueous solution using tetracyanoethylene reagent. *J. Edu. Sci.*, 2012, 25(4), 47–60.
73. Al-Attas A.S. Charge transfer complex formation in spectrophotometric and conductometric determination of some sulfonamides. *Saudi Pharm. J.*, 2003, 11(3), 141–145.
74. El-Dien F.A.N., Mohamed G.G., Frag E.Y. Utility of π -acceptor reagents for spectrophotometric determination of sulphonamide drugs via charge-transfer complex formation. *Chem. Papers*, 2009, 63(6), 646–653.
75. Onah J.O., Odeiani J.E. Simultaneous spectrophotometric determination of sulfadoxine and pyrimethamine in pharmaceutical formulations. *J. Pharm. Biomed.*, 2002, 30(3), 851–857.
76. Hasan M.A., Ibrahim H.A., Al-Sabha T.N. Spectrophotometric assay of some nitrogen containing drugs in pharmaceutical formulations using *p*-chloranilic acid reagent. *J. Adv. Chem.*, 2014, 9(1), 1798–1809.
77. Al-Ghabsha T.S., Al-Sabha T.N., Al-Enizzi M.S. Spectrophotometric determination of sulfamethoxazole via charge transfer complex formation reaction. *J. Edu. Sci.*, 2013, 26(4), 56–67.
78. Петренко В.В. Спектрофотометрическое определение некоторых сульфаниламидов по реакции с биндоном. *Журн. анал. химии*, 1980, 35(1), 200–202.
79. Петренко В.В., Дерюгина Л.И. Количественное определение сульфалена. *Фармация*, 1983, 32(4), 38–40.
80. Issa Y.M., Amin A.S. Spectrophotometric microdetermination of sulfamethoxazole and trimethoprim using alizarin and quinalizarin. *Anal. Lett.*, 1994, 27(6), 1147–1158.
81. Amin A.S., El-Sayed G.O., Issa Y.M. Application of alizarin derivatives as chromogenic reagents for the spectrophotometric determination of some sulfa drugs. *Microchem. J.*, 1995, 51(3), 367–373.
82. Siddappa K., Tambe M., Metre M., Kote M. Spectrophotometric methods for the determination of sulfamethaxazole by a Schiff's base reactions in pure and pharmaceutical dosage forms. *J. Pharm. Res.*, 2011, 4(2), 308–311.
83. Vaid F.H.M., Aminuddin M., Mehmood K. *o*-Phthalaldehyde based spectrophotometric determination of sulfonamides. *Pakistan J. Pharm. Sci*, 2004,

17(2), 77–84.

84. Клокова Е.В., Дмитриенко С.Г. Спектрофотометрическое определение сульфаниламидов по реакции конденсации с *п*-диметиламиноричным альдегидом. *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия*, 2008, 49(5), 339–343.

85. Green M.D., Mount D.L., Todd G.D. Determination of sulfadoxine concentration in whole blood using C18 solid-phase extraction, sodium dodecyl sulfate and dimethylaminocinnamaldehyde. *Analyst*, 1995, 120(10), 2623–2626.

86. Пат. 1817008, Россия, МПК 51, G01N 21/78. Способ количественного определения сульфаниламидных препаратов. Чернова Р.К., Гусакова Н.Н., Борисова Г.М., Масько Л.И., Кошелева Л.Г. Оpubл. 23.05.1993, Бюл. №19.

87. El-Kommos M.E., Emara K.M. Application of 3-methylbenzothiazolin-2-one hydrazone as a chromogenic reagent for the spectrophotometric determination of certain sulfa drugs. *Analyst*, 1988, 111(1), 133–137.

88. Othman N.S., Kadder R.M. Application of triuoperazine hydrochloride as a chromogenic reagent for spectrophotometric determination of sulphacetamide sodium – application to ophthalmic preparations. *Raf. J. Sci.*, 2006, 17(4), 92–103.

89. Nagaraja P., Shrestha A.K., Kumar A.S., Gowda A.K. Use of *N,N*-diethyl-*p*-phenylenediamine sulphate for the spectrophotometric determination of some phenolic and amine drugs. *Acta Pharm.*, 2010, 60(2), 217–227.

90. Verma K.K., Stewart K.K. Spectrophotometric determination of aromatic primary amines and nitrite by flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta*, 1988, 214, 207–216.

91. Abdine H., Korany M.A., Wahbi A.M., El-Yazbi F. Colorimetric determination of some sulphonamides with phenothiazine. *Talanta*, 1979, 26(11), 1046–1048.

92. Azeez Y.J., Al-Abachi M.Q., Shakir I.M.A. Spectrophotometric determination of some sulphonamide drugs via oxidative coupling with phenothiazine and benzoyl peroxide using flow-injection technique. *Nat. J. Chem.*, 2006, 23, 281–293.

93. Mohamed F.A., Mohamed A.I., El-Shabouri S.R. Visible spectrophotometric determination of sulphonamides. *J. Pharm. Biomed.*, 1988, 6(2), 175–183.

94. Al-Abachi M.Q., Salih E.S., Salem M.S. Application of promethazine hydrochloride as a chromogenic reagent for the spectrophotometric determination of certain sulphonamide drugs. *Fresen J. Anal. Chem.*, 1990, 337(4), 408–411.

95. Fogg A.G., Fayad N.M. Spectrophotometric and differential pulse polarographic determination of sulphaguanidine by reaction with hypochlorite and phenol. *Anal. Chim. Acta*, 1979, 106(2), 365–367.

96. Sastry C.S.P., Srinivas K.R., Krishna Prasad K.M.M. Spectrophotometric determination

of bio-active compounds with chloramine-T and gallosyanine. *Talanta*, 1996, 43(10), 1625–1632.

97. Калашников В.П., Долотова Т.М., Минка А.Ф. Кількісне визначення сульгину в субстанції та лікарських формах. *Фарм. журнал*, 1999, 5, 69–71.

98. Пат. 2488110, Россия, МПК 51, G01N 33/15, G01N 31/22. Способ фотоэлектродиметрического определения сульфаниламидных препаратов. Калашников В.П., Сливкин А.И. Оpubл. 20.07.2013, Бюл. №20.

99. Vijaya Raja G. Bala Sekaran C., Siva Kumari P. Simple and rapid methods for the analysis of sulfonamide bacteriostatic antibiotic in dosage forms. *Orient. J. Chem.*, 2008, 24(3), 1021–1024.

100. Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю., Шакирова Л.Ш., Левинсон Ф.С. Спектрофотометрическое и хроматографическое определение сульфаниламидов в биологических жидкостях и лекарственных формах. *Журн. аналит. химии*, 2000, 55(8), 888–895.

101. Stewart J.T., Ray A.B., Fackler W.B. Colorimetric determination of some sulfonamides with 9-chloroacridine. *J. Pharm. Sci.*, 1969, 58(10), 1261–1262.

102. Гайдукевич О.М., Махіда Сидом Б., Безуглий В.Д. Фотометричне визначення стрептоциду, анестезину та новокаїну в лікарських формах. *Фарм. журнал*, 1978, 1, 63–67.

103. Гайдукевич О.М., Бородай І.В. Фотометричне визначення лікарських препаратів за допомогою 9-хлоракридину. *Фарм. журнал*, 1980, 6, 23–26.

104. Sharma S., Neog M., Prajapati V., Patel H., Dabhi D. Spectrophotometric estimation of sulfadoxine in pharmaceutical preparations. *E-J. Chem.*, 2010, 7(4), 1246–1253.

105. Romero A.M., Benito C.G., Calatayud J.M. Continuous flow spectrophotometric determination of sulphadiazine by diazotisation with in situ preparation of nitrite. *Anal. Chim. Acta*, 1995, 308(3), 451–456.

106. Sharma S., Neog M., Dabhi D. Development and validation of spectrophotometric methods for estimating sulfamethoxazole in pharmaceutical preparations. *Int. J. Pharm. Sci. Drug Res.*, 2010, 2(3), 204–209.

107. Salinas F., Espinosa Mansilla A. Derivative spectrophotometric determination of sulphonamides by the Bratton-Marshall reaction. *Anal. Chim. Acta*, 1990, 233, 289–294.

108. Nagaraja P., Sunitha K.R., Vasantha R.A., Yathirajan H.S. Iminodibenzyl as a novel coupling agent for the spectrophotometric determination of sulfonamide derivatives. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2002, 53(1), 187–192.

109. El-Sayed Metwally M. Primaquine phosphate as a promising substitute for *N*-(1-Naphthyl) ethylenediamine; II. Analysis of sulfa drugs in pharmaceutical dosage forms and biological samples. *Anal. Sci.*,

1999, 15(10), 979–984.

110. Azeez Y.J. Spectrophotometric determination of sulfathiazole in different pharmaceutical formulations. *Wasit J. Sci. Med.*, 2009, 2(1), 30–38.

111. Khalaf H.S., Al-Haidari A.M.A., Dikran S.B., Mohammed A.K. Spectrophotometric determination of sulfamethoxazole following simple diazotization and coupling with diphenylamine. *J. Pure & Appl. Sci.*, 2014, 27(3), 365–380.

112. Nagaraja P., Yathirajan H.S., Sunitha K.R., Vasantha R.A. A new, sensitive, and rapid spectrophotometric method for the determination of sulfa drugs. *J. AOAC Int.*, 2002, 85(4), 234–250.

113. Nagaraja P., Yathirajan H.S., Raju C.R., Vasantha R.A., Nagendra P., Hemantha Kumar M.S. 3-Aminophenol as a novel coupling agent for the spectrophotometric determination of sulfonamide derivatives. *Farmaco*, 2003, 58(12), 1295–1300.

114. Taha I.A. Spectrophotometric determination of sulphamethazine by the diazotisation-coupling method with *m*-aminophenol as the coupling agent-application to pharmaceutical. *Raf. J. Sci.*, 2005, 16(3), 7–14.

115. Ahmed R.K., Salman M.K., Hamed A.H., Dhahir S.A. Safety method, spectrophotometric determination of sulfamethaxazole drug in bulk and pharmaceutical preparations. *Baghdad Sci. J.*, 2010, 7(1), 607–613.

116. Othman N.S., Kadder R.M. Histidine as a new coupling agent for the spectrophotometric assay of sulphadiazine – application to pharmaceutical preparations. *Raf. J. Sci.*, 2006, 17(4), 25–35.

117. Попов Д.М., Литвин А.А. Фотоколориметрическое определение анестезина, новокаина и стрептоцида в сложных лекарственных формах. *Хим. фарм. журнал*, 1980, 24(10), 108–111.

118. Ansari M.T., Ansari T.M., Raza A., Ashraf M., Yar M. Spectrophotometric determination of amodiaquine and sulfadoxine in pharmaceutical preparations. *Chem. Anal.*, 2008, 53, 305–313.

119. Shamsa F., Amani L. Determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in pharmaceuticals by visible and UV spectrophotometry. *Iranian J. Pharm. Res.*, 2006, 1(1), 31–36.

120. Othman N.S. Spectrophotometric determination of some sulphonamides in aqueous solution via azo-dye formation reaction. *J. Edu. Sci.*, 2005, 17(2), 32–40.

121. Минка А.Ф., Шкадова А.Ф., Копійчук І.І. Фотоколориметричне визначення сульфаниламідних препаратів. *Фарм. журнал*, 1987, 1, 38–40.

122. Sabry S.S. Enhanced spectrophotometry of sulfonamides with novel 2-acetylbutyrolactone derivatives. *Anal. Lett.*, 2006, 39(13), 2591–2615.

123. Nagaraja P., Naik S.D., Sherestha A., Shiva-kumar A. A sensitive spectrophotometric method for the determination of sulfonamides in pharmaceutical preparations. *Acta Pharm.*, 2007, 57(3), 333–342.

124. Ellaithy M.M., El-Khateeb S.Z., El-Tarras M.F.

Calorimetric microdetermination of some sulfa drugs. *Microchem. J.*, 1986, 33(2), 168–171.

125. Mohammed S.A., Zebary H.Y.S. Spectrophotometric determination of sulfadiazine via diazotization and coupling reaction - application to pharmaceutical preparations. *Raf. J. Sci.*, 2013, 24(6), 61–73

126. Алыков Н.М., Жукова О.С., Бубнова В.В., Бубнова Н.В., Дейкина Е.В. Разработка методики определения сульфаниламидных препаратов в различных материалах. *Научный потенциал регионов на службу модернизации. Астрахань: АИСИ*, 2012, 3(2), 11–14.

127. Пат. 2419091, Россия, МПК 51, G01N 33/15, G01N 21/78. Способ количественного определения сульфамидных препаратов в лекарственных формах. Алыков Н.М., Дейкина Е.В. Опубл. 20.05.2011, Бюл. №14.

128. Darweesh S.A., Al-Haidari I.M.A., Dikran S.B., Mohammed A.K. Development of New Spectrophotometric method for determination of sulfamethoxazole based on diazo coupling reaction. *Iraqi Nat. J. Chem.*, 2014, 53, 20–35.

129. Darweesh S.A., Al-Haidari I.M.A., Mohammed A.K., Dikran S.B. Spectrophotometric determinations of sulfacetamide following simple diazotization and coupling with chromotropic acid. *Ibn Al-Haitham J. Pure & Appl. Sci.*, 2013, 26(3), 281–295

130. Nagaraja P., Sunitha K.R., Vasantha R.A., Yathirajan H.S. Rapid spectrophotometric determination of sulphonamide derivatives with resorcinol. *Indian J. Pharm. Sci.*, 2002, 644(4), 391–393.

131. Upadhyay K., Asthana A., Tiwari N. Solid phase extractive spectrophotometric determination of some sulfa drugs. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, 2012, 5(2), 222–226.

132. Bojko M., Vrublevska T., Korkuna O., Teslyar G. Application of sulphanilamides disazo dyes with Tropaeolin O for simple, rapid and sensitive spectrophotometric assay of medicines. *Spectrochim. Acta A*, 2011, 79A(2), 325–331.

133. Бойко М., Врублевська Т., Коркуна О., Тесляр Г. Спектрофотометричне визначення сульфаниламідів у лікарських формах з використанням тропеоліну О. *Вісн. Львів. Ун-ту. Серія Хімія*, 2011, 52, 174–183.

134. Бойко М., Врублевська Т., Коркуна О., Тесляр Г. Аналіз комбінованих лікарських препаратів на вміст сульфаниламідів. *Вісн. НУ «Львівська політехніка» «Хімія, технологія речовин та їх застосування»*, 2011, 700, 89–94.

135. Пат. 201009544, Україна, МПК 51, G01N 21/75, G01N 21/78. Спосіб спектрофотометричного визначення сульфаниламідів у фармацевтичних препаратах. Бойко М.Я., Врублевська Т.Я., Коркуна О.Я., Коцюмбас І.Я., Янович Д.В., Тесляр Г.Ю. Опубл. 10.03.2011, Бюл. №5.

136. Бойко М., Врублевская Т., Коркуна О., Коцюмбас И., Тесляр Г. Спектрофотометрическое определение производных сульфаниламида с

использованием 4-(2-пиридилазо) резорцина. *Вопр. Хим. технол.*, 2012, 2, 116–126.

137. Бойко М., Врублевская Т., Коркуна О., Тесляр Г., Янович Д. Определение сульфаниламидов в комбинированных лекарственных препаратах с использованием 4-(2-пиридилазо) резорцина. *Зав. Лаб.*, 2012, 28(11), 19–24.

138. Smolinska M., Korkuna O., Rudchuk P., Vrublevska T., Teslyar G. Development and validation of a simple and sensitive spectrophotometric determination of sulphanilamides with 4-(2-thiazolylazo)-resorcinol in veterinary preparations. *Open Chem.*, 2015, 13, 1254–1268.

139. Smolinska M., Korkuna O., Vrublevska T., Teslyar G. Eriochrome black T is a new analytical reagent for spectrophotometric determination of sulphanilamides. *Chem. Chem. Technol.*, 2015, 9(4), 401–410.

140. Бойко М., Коркуна О., Врублевська Т., Тесляр Г. Використання азобарвника еріохром синьо-чорного R для визначення сульфаніламідів у готових лікарських формах. *Методи та об'єкти хімічного аналізу*, 2014, 9(2), 73–82.

141. Бойко М., Коркуна О., Врублевська Т.,

Тесляр Г. Використання еріохром синього SE як аналітичного реагента для спектрофотометричного визначення сульфаніламідів. *Вісн. Львів. Ун-ту. Серія Хімія*, 2014, 55(1), 232–248.

142. Цоллингер Г. Химия азокрасителей. Пер. с нем. Порай-Кошиц Б.А. Ленинград: Госхимиздат, 1960. С. 160–169.

143. Бойко М.Я., Коцюмбас І.Я., Коркуна О.Я., Мелікян С.М., Врублевська Т.Я., Тесляр Г.Ю. Спектрофотометричне визначення сульфатіазолу у сироватці крові людини з використанням азореагентів. *Фарм. часопис*, 2014, 31(3), 50–55.

144. Бойко М., Врублевська Т., Коркуна О., Коцюмбас І., Тесляр Г., Смалюх О. Розробка та валідація аналітичної методики спектрофотометричного визначення сульфаметазину в препараті «Мастисан-А-Форте». *Фарм. журнал*, 2012, 2, 50–59.

145. Коркуна О., Смолінська М., Врублевська Т. Розробка та валідація аналітичної методики спектрофотометричного визначення сульфаметазину в розчині «Зинаприм» із застосуванням еріохром чорного Т. *Вісн. Львів. Ун-ту. Серія Хімія*, 2015, 56(1), 168–178.