

УДК 543.552:[547.541.521+547.556.33]

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ СУЛЬФАДИМЕТОКСИНУ ЗА ДОПОМОГОЮ МОНОАЗОБАРВНИКА ТРОПЕОЛІНУ О

О. Коркуна*¹, П. Ридчук¹, Т. Врублевська¹, М. Смолінська²

¹Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Кирила і Мефодія, 6, 79005 Львів, Україна

²Державний науково-дослідний контрольний інститут
ветпрепаратів та кормових добавок,
вул. Донецька, 11, 79019 Львів, Україна
*e-mail: olga_korkuna@yahoo.com

Розроблено методику вольтамперометричного визначення сульфадиметоксину з використанням азореагента тропеоліну О, яка полягає у попередньому діазотуванні первинної ароматичної аміногрупи сульфадиметоксину 10-кратним стосовно останнього надлишком натрій нітриту у середовищі 0,5 М хлоридної кислоти з наступним азосполученням отриманої солі діазонію з нітрозованим тропеоліном О в 1,5-кратному надлишку щодо кількості сульфадиметоксину в лужному середовищі з рН 10,5 за наявності 0,01 М натрій тетраборату. Вольтамперометричне відновлення синтезованого нітрозодисазобарвника проводять у межах потенціалів від -0,2 до -1,5 В на ртутному краплинному електроді зі швидкістю накладання напруги поляризації 1,0 В/с щодо насиченого каломелевого електрода як електрода порівняння та платинового допоміжного електрода, вимірюючи величину струму катодного піка новоутвореної азогрупи при $E_{\kappa}^n = -1,01$ В. Прямолінійна залежність аналітичного сигналу від концентрації сульфадиметоксину в розчині простежується в концентраційних межах $2,6 \cdot 10^{-5} - 6,4 \cdot 10^{-5}$ М. Методика дає змогу визначати мікрограмові кількості сульфадиметоксину ($C_n = 2,1 \cdot 10^{-5}$ М), проста у виконанні та доступна з погляду апаратурного забезпечення. У ході апробації розробленої методики на реальному об'єкті – таблетках “Сульфадиметоксин” (ВАТ “Боршагівський хіміко-фармацевтичний завод”) підтверджено правильність одержаних результатів, які цілком узгоджуються з результатами референтних методик. Досліджено механізм електрохімічного відновлення нітрозованого тропеоліну О та нітрозованого дисазобарвника.

Ключові слова: діазотування, азосполучення, сульфадиметоксин, тропеолін О, вольтамперометрія.

Сульфадиметоксин (СДМ) – синтетичний препарат з групи сульфаніламідних препаратів тривалої дії. Препарат має бактеріостатичну дію, що полягає у порушенні синтезу мікроорганізмами фолієвої кислоти та блокуванні засвоєння мікроорганізмами *n*-амінобензойної кислоти. СДМ застосовують у разі інфекцій, спричинених чутливими до препарату мікроорганізмами: бронхіту, тонзиліту, пневмонії, гаймориту, отиту, бешихи, піодермії, ранових інфекцій, шигельозу, гонореї, холециститу, пієлоциститу, трахоми, токсоплазмозу у складі комбінованої терапії, резистентних форм малярії. Широко використовують у фармацевтичній та ветеринарній практиці як діючу речовину у простих та комбінованих антибактеріальних препаратах [1].

Сучасні різновиди вольтамперометрії широко застосовують для визначення сульфаніламідів у лікарських препаратах. Окрім високої чутливості визначення, перевага методів вольтамперометрії полягає в одночасному визначенні кількох сполук за сумісної наявності, а також у можливості аналізувати каламутні та забарвлені розчини, що значно скорочує тривалість аналізу. З аналітичною метою використовують анодні хвилі окиснення первинної ароматичної аміногрупи сульфаніламіду за потенціалів від +0,75 В до +1,5 В [2–10] та хвилі відновлення їхніх сульфогруп за потенціалів від -0,5 В – -1,5 В [11–18] у середовищі водно-органічних та органічних розчинників.

Відомі методики вольтамперометричного визначення сульфаніламідів з комплексних сполук, за піком відновлення центрального іона. Найчастіше, таким координуючим металом є Cu(II), у цьому разі можливе визначення за відновленням комплексів з розчину класичними різновидами вольтамперометрії та попереднє концентрування таких комплексів на поверхні електрода (адсорбційна та інверсійна вольтамперометрія) [7–9, 16–18].

Значну чутливістю та селективністю вольтамперометричного визначення мають методики з використанням графітових електродів, модифікованих плівками з бісмуту [11–13], та скловуглецевих електродів, модифікованих полі-(3-метилтіофеном) [14]. Перевагою останньої методики є висока чутливість ($\sim 10^{-8}$ – 10^{-7} М) та селективність стосовно різних сульфаніламідів.

Реакція азосполучення діазотованих сульфаніламідів описана в низці вольтамперометричних методик. У цьому разі як азоскладову рекомендують застосовувати 2-ацетилбутиролактон [19], 1-нафтол [20], 8-гідроксихінолін [21], фенол [22]. Проте використані в зазначених працях різновиди вольтамперометрії: диференціальна імпульсна та диференціальна за другою похідною [23–25] разом з інверсійним різновидом належать до дорожчих методів аналізу, хоча, безперечно, ці методики характеризуються високою чутливістю визначення (десятки нанограмів) та інтервалом визначуваних концентрацій у межах одного-двох концентраційних порядків.

Недоліком деяких відомих вольтамперометричних методик є погана відтворюваність результатів, що пов'язано зі змінами в розміщенні лінії фону на вольтамперограмах, викликаних станом поверхні самих твердих електродів, необхідність модифікації електродів та попередньої підготовки сенсорної системи, використання токсичних органічних розчинників. Тому пошук нових аналітичних систем для розроблення вольтамперометричного визначення сульфаніламідів є надалі актуальним завданням.

Наше дослідження полягало в застосуванні кислотного моноазобарвника тропеоліну О (Tr O) для вольтамперометричного визначення СДМ, який ми успішно використали для спектрофотометричного аналізу різних сульфаніламідів [26]. Розроблена спектрофотометрична методика полягає в попередньому діазуванні первинної ароматичної аміногрупи сульфаніламідів у хлориднокислому середовищі та азосполученні отриманої солі діазонію з нітрозованим Tr O в лужному середовищі. Утворені нітрозодисазобарвники виявились електрохімічноактивними речовинами [27], що дало нам підстави для використання цього типу аналізу для розроблення вольтамперометричної методики визначення СДМ у лікарських засобах.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Реагенти

Усі водні розчини, які використовували в роботі, готували на дистильованій воді. Розчини СДМ готували розчиненням точної наважки реактиву із вмістом основної речовини не менше 99 % фірми Sigma у 0,1 М розчині натрій гідроксиду. Розчини СДМ зберігали за кімнатної температури в захищеному від світла місці.

Вихідний стандартний розчин кислотного азобарвника тропеоліну О з концентрацією $1,5 \times 10^{-3}$ М готували розчиненням точної наважки реактиву фірми Fluka (Німеччина; вміст основної речовини не менше 95 %) у дистильованій воді.

Розчин натрій нітриту, натрій тетраборату готували розчиненням точної наважки реактивів кваліфікації ч.д.а. у дистильованій воді.

Робочі розчини хлоридної кислоти готували розведенням концентрованої кислоти кваліфікації х.ч. у дистильованій воді. Розчини натрій гідроксиду готували розчиненням реактиву кваліфікації х.ч. у дистильованій воді.

Обладнання

Кислотність середовища контролювали, використовуючи рН-метр рН-150 М (РУП "Гомельський завод измерительных приборов", Білорусь) з комбінованим скляним електродом. Необхідне значення рН середовища створювали додаванням розчинів хлоридної кислоти чи натрій гідроксиду.

Світлопоглинання вимірювали на скануючому спектрофотометрі SPECORD М-40 (Carl Zeiss Jena, Німеччина) в кюветках з $l = 1$ см.

Вольтамперометричні дослідження проводили на комп'ютеризованій установці з трикутною формою накладання напруги поляризації, правильність показів якої підтверджена звірянням з показами осцилографічного полярографа ЦЛА-03. Значення потенціалів піків на вольтамперограмах ЦЛА-03 вимірювали за допомогою іоніміра ЕВ-74 в режимі потенціометра з точністю ± 1 мВ. Для вольтамперометричних досліджень використовували триелектродну комірку: індикаторний електрод – ртутний краплинний електрод (р.к.е.), електрод порівняння – насичений каломелевий (н.к.е.), допоміжний електрод – платиновий. Аналітичні дослідження проводили за швидкості накладання напруги поляризації 0,6–2,5 В/с, що пов'язано з інструментальними обмеженнями, $E_{\text{поч}} = -0,2$ В і $E_{\text{кін}} = -1,5$ В. Вольтамперограми знімали за кімнатної температури ($\sim 20^\circ\text{C}$). Розчинений кисень з досліджуваних розчинів усували барботуванням очищеного аргону впродовж 10 ± 1 хв.

Циклічні вольтамперограми розчинів знімали за швидкості накладання напруги поляризації 1,0 В/с, що пов'язано з невеликим часом життя ртутної краплі (6 с). Таке значення є мінімально можливим для одержання циклічної вольтамперограми розчину. Подальше ж збільшення швидкості накладання напруги поляризації є недоцільне, оскільки внаслідок зростання ємнісної складової струму зменшується точність вимірювання струму піків відновлення (рис. 1). Вольтамперометричні дослідження проводили в діапазоні потенціалів від -0,2 В до -1,5 В, що, насамперед, пов'язано з відсутністю піків відновлення/окиснення досліджуваних речовин у ширшому діапазоні, а також з кращим унаочненням полярограми, що полегшує подальшу обробку одержаних результатів.

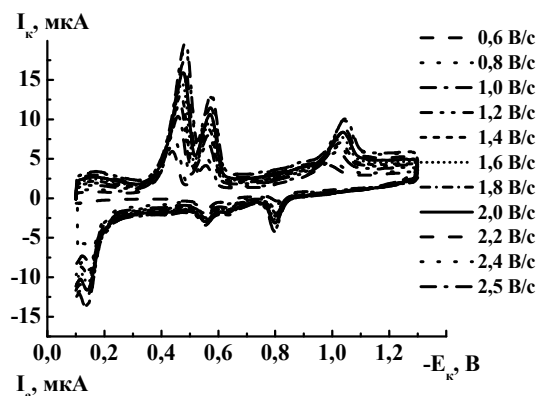


Рис. 1. Циклічні вольтамперограми розчину нітрозованого дисазобарвника за різної швидкості накладання напруги поляризації. $C_{\text{HCl}} = 0,5 \text{ M}$, $C_{\text{NaNO}_2} = 1,25 \cdot 10^{-2} \text{ M}$, $C_{\text{СДМ}} = 3,9 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{TrO}} = 6,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7} = 0,01 \text{ M}$, $\text{pH} = 10,5$, $V = 1,0 \text{ V/c}$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Сам СДМ та продукт його діазотування не є електрохімічноактивними в досліджуваному діапазоні потенціалів, оскільки на вольтамперограмах їхніх розчинів не простежуються жодні полярографічні піки (рис. 2, а). Електрохімічне відновлення досліджуваного азореагента Tr O супроводжується появою на вольтамперограмі одного катодного піка, якому відповідає необоротне відновлення азогрупи за потенціалу $-0,86 \text{ V}$ (рис. 2, б). Про необоротний характер катодного процесу свідчить відсутність відповідних анодних піків на циклічній вольтамперограмі.

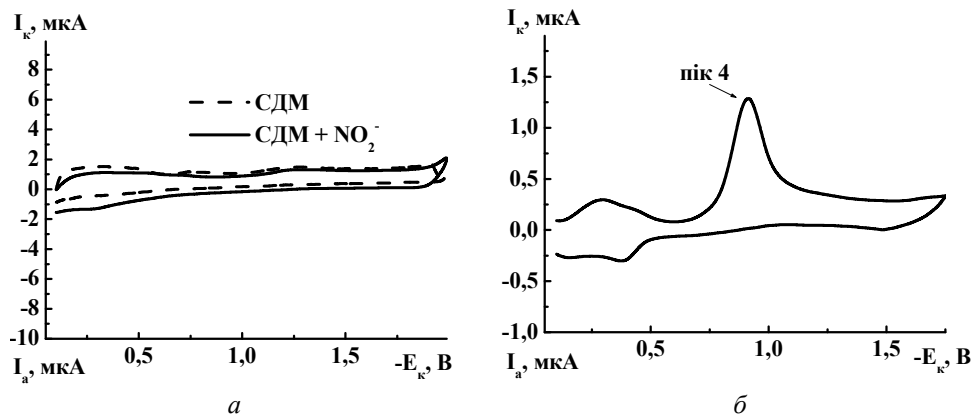


Рис. 2. Циклічні вольтамперограми розчинів СДМ за наявності та без натрій нітриту (а) та Tr O (б). $C_{\text{HCl}} = 0,5 \text{ M}$, $C_{\text{СДМ}} = 1,3 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{NaNO}_2} = 1,25 \cdot 10^{-2} \text{ M}$, $C_{\text{TrO}} = 2,5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7} = 0,01 \text{ M}$, $\text{pH} = 10,5$, $V = 1,0 \text{ V/c}$.

Ми з'ясували, що в умовах діазотування СДМ відбувається введення нітрозогрупи в резорцинове кільце Tr O, про що свідчить поява нових катодних піків на вольтамперограмах "холостого" розчину за потенціалів $E_{\text{к}}^{\text{n}} = -0,45 \text{ V}$ і $E_{\text{к}}^{\text{n}} = -0,55 \text{ V}$.

Оскільки СДМ та продукт його діазотування полярографічно неактивні, то очевидно, що простежувані піки відповідають відновленню електроактивних груп, які утворились у Тр О після взаємодії з натрій нітритом у кислому середовищі. Ми припускаємо, що за таких умов можливе нітрузування саме резорцинового фрагмента азобарвника, оскільки воно відбуватиметься найлегше. Загалом у випадку електрохімічного перетворення нітрованого Тр О на вольтамперограмі простежуються чотири катодні піки, яким відповідає двостадійне відновлення нітрито- (піки 1 та 2 при $E_{\text{к}}^{\text{н}} = -0,45$ В і $E_{\text{к}}^{\text{н}} = -0,55$ В, відповідно) та азогруп (піки 3 та 4 при $E_{\text{к}}^{\text{н}} = -0,71$ В і $E_{\text{к}}^{\text{н}} = -0,86$ В, відповідно) реагента (рис. 3, а).

На вольтамперограмах розчинів продукту взаємодії Тр О з сіллю діазонію СДМ за наявності непрореагованого нітриту, окрім піків 1 та 4 нітрованого Тр О, простежуються додаткові піки. Нові катодні піки відповідають відновленню нітрито- (пік 5, при $E_{\text{к}}^{\text{н}} = -0,55$ В) та азогруп (пік 6, при $E_{\text{к}}^{\text{н}} = -1,01$ В) синтезованого дисазобарвника, одержаного внаслідок азосполучення нітрованого Тр О з діазосіллю СДМ (рис. 3, б). Піки 2 та 3 не простежуються на вольтамперограмі нітрованого дисазобарвника внаслідок накладання вищого піка 5.

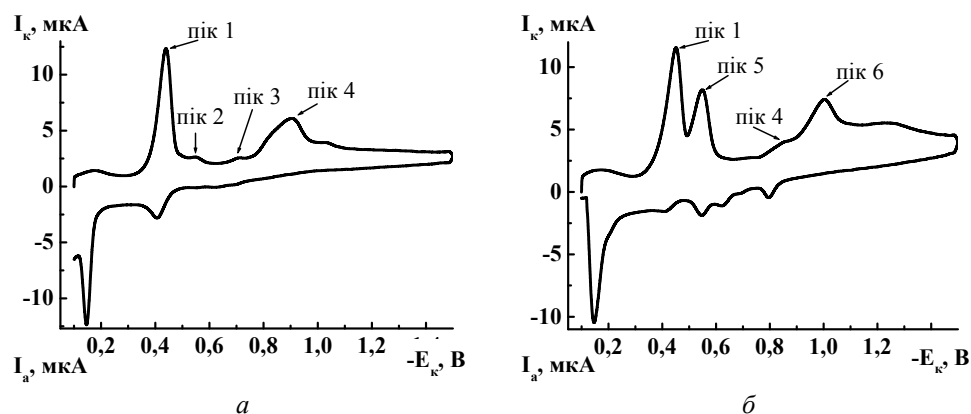


Рис. 3. Циклічні вольтамперограми розчинів нітрованого Тр О (а) та утвореного нітрованого дисазобарвника (б). $C_{\text{HCl}} = 0,5$ М, $C_{\text{СДМ}} = 4,5 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{NaNO}_2} = 1,25 \cdot 10^{-2}$ М, $C_{\text{ТрО}} = 9,0 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7} = 0,01$ М, рН = 10,5, $V = 1,0$ В/с.

Електрохімічне відновлення нітрованого Тр О та утвореного нітрованого дисазобарвника є необоротним електродним процесом. Про це свідчить відсутність відповідних анодних піків у випадку піків 2, 3, 4 і 6, та більше від одиниці співвідношення катодного й анодного струму у випадку піків 1, 3 та 5.

Дослідження залежностей критерію Семерано катодних піків на вольтамперограмах розчинів нітрованого Тр О (рис. 4, а) засвідчили, що природа струму піків 1, 2 та 3 є адсорбційною, оскільки кутові коефіцієнти відповідних залежностей – більше від 0,5. Натомість катодний пік 4 має кінетичну природу струму ($d \lg I_{\text{к}}^{\text{н}} / d \lg V < 0,5$), тобто загальна швидкість електрохімічного перетворення, яке відповідає цьому піку, лімітована хімічною реакцією. З огляду на те, що піку 4 відповідає друга стадія електрохімічного відновлення азогрупи, можна припустити, що цією хімічною реакцією є приєднання йона гідрогену до утвореного на першій стадії інтермедіату.

У випадку нітрованого дисазобарвника природу катодного струму визначено лише для деяких катодних піків, оскільки неможливо виміряти значення фонового струму. Отже, природу струму визначено лише для піків 1, 4 та 6 (рис. 4, б), для яких значення кутових коефіцієнтів критерію Семерано свідчать про адсорбційну природу катодного струму. Отже, введення другої азогрупи спричинило зміну природи струму піка 4, тобто швидкість адсорбції нітрованого дисазобарвника є меншою, ніж нітрованого тропеоліну.

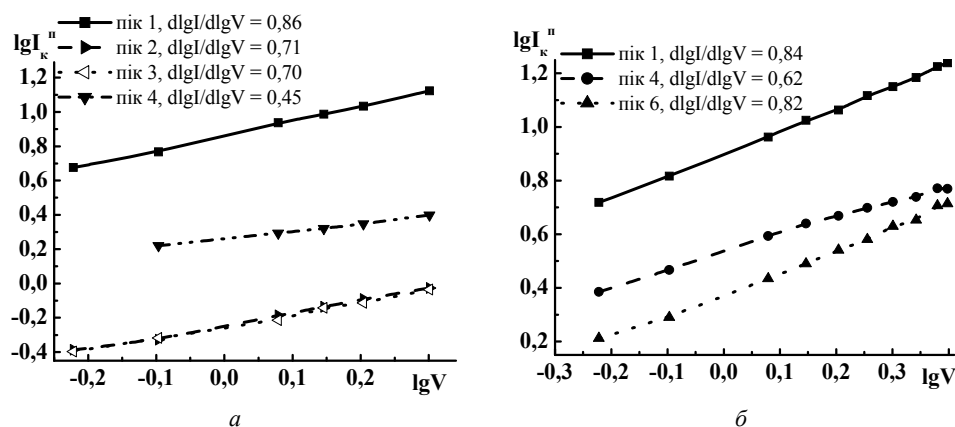


Рис. 4. Залежності критерію Семерано для катодних піків нітрованого Тр О (а) та нітрованого дисазобарвника (б). $C_{HCl} = 0,5$ М, $C_{NaNO_2} = 1,25 \cdot 10^{-2}$ М, $C_{СДМ} = 3,9 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{TrO} = 6,0 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{Na_2B_4O_7} = 0,01$ М, рН = 10,5, V = 1,0 В/с.

При розробці будь-якої аналітичної методики завжди необхідно знати механізм виникнення аналітичного сигналу, щоб під час аналізу складних об'єктів врахувати чи усунути можливий вплив сторонніх компонентів. Тому ми також досліджували механізм електрохімічного відновлення синтезованого нітрованого дисазобарвника.

Нами встановлено, що відновлення нітросо- та азогруп як нітрованого Тр О, так і нітрованого дисазобарвника відбувається за участю іонів гідрогену. Про це свідчить лінійне зміщення потенціалів катодних піків обох типів електроактивних груп при зменшенні рН розчину (рис. 5).

Ми припускаємо, що у випадку піка 6, якому відповідає відновлення азогрупи, синтезованої внаслідок азосполучення, механізм відновлення змінюється зі зміною кислотності середовища. На зміну механізму відновлення може вказувати зміна кута нахилу залежності потенціалу піку від рН розчину (рис. 5, б). Наприклад, від рН 9,0 до рН 10,0 кутовий коефіцієнт цієї залежності дорівнює 148,2 мВ/рН, а в інтервалі рН 10,5–11,5 – 81,6 мВ/рН. Тобто в більш лужному середовищі зменшується кількість іонів гідрогену, які приєднуються до азогрупи, а це може свідчити про утворення нових продуктів відновлення.

Кількість іонів гідрогену, які беруть участь в електрохімічному відновленні, розраховували із залежності потенціалів катодних піків від кислотності середовища, кутовий коефіцієнт (тангенс кута нахилу) якої дорівнює $0,059 n_{H^+}/n_e$.

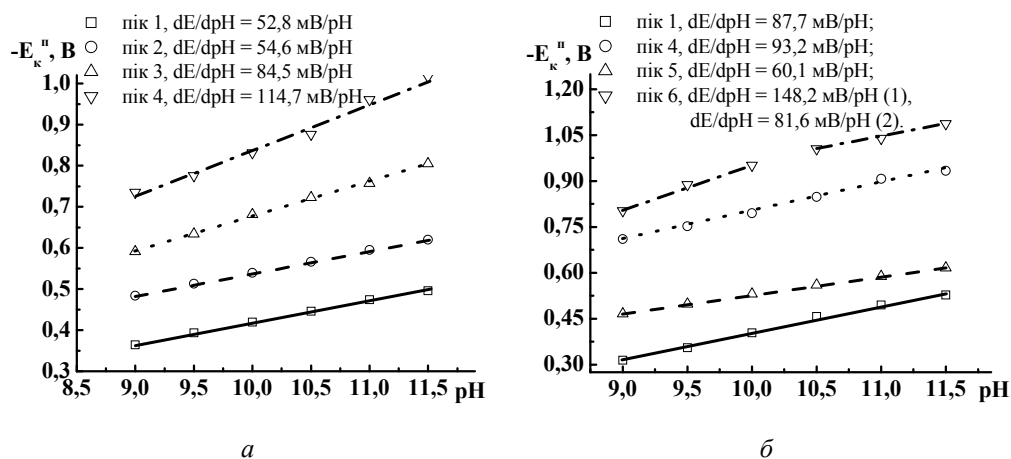


Рис. 5. Залежність потенціалу катодних піків нітрованого Тр О (а) та нітрованого дисазобарвника (б) від кислотності середовища. $C_{\text{HCl}} = 0,5 \text{ М}$, $C_{\text{NaNO}_2} = 1,25 \cdot 10^{-2} \text{ М}$, $C_{\text{СДМ}} = 3,9 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, $C_{\text{ТрО}} = 6,0 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, $C_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7} = 0,01 \text{ М}$, $\text{pH} = 10,5$, $V = 1,0 \text{ В/с}$.

Попередньо ми розрахували кількість електронів, які приєднуються при відновленні нітросо- та азогруп нітрованого Тр О та нітрованого дисазобарвника (n_a). Для цього використовували графічну прямолинійну залежність $\lg \Delta I/I = f(E_k)$, побудовану для висхідної ділянки кожного з піків. Розраховані значення n_a і n_H^+ для катодних піків нітрованого Тр О та нітрованого дисазобарвника наведені в табл. 1.

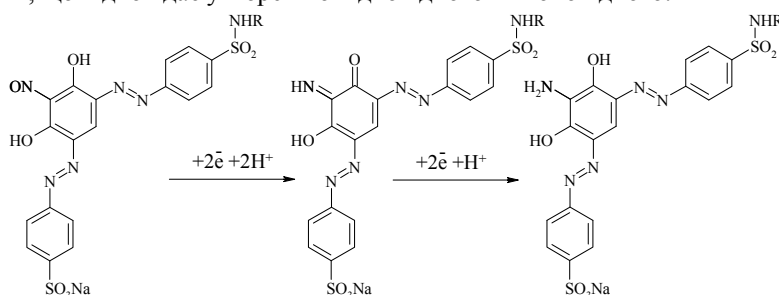
Таблиця 1

Розраховані значення n_a і n_H^+ для катодних піків нітрованого Тр О та нітрованого дисазобарвника

Параметр	Пік							
	нітрований Тр О				нітрований дисазобарвник			
	1	2	3	4	1	4	5	6
Кількість електронів (за залежністю $\lg \Delta I/I = f(E_k)$)	2	1	2	2	2	1	2	1
Кількість протонів (за залежністю $E_k^n = f(\text{pH})$)	2	1	1	1	3	2	2	3 (при $\text{pH} \leq 10,0$) 2 (при $\text{pH} \geq 10,5$)

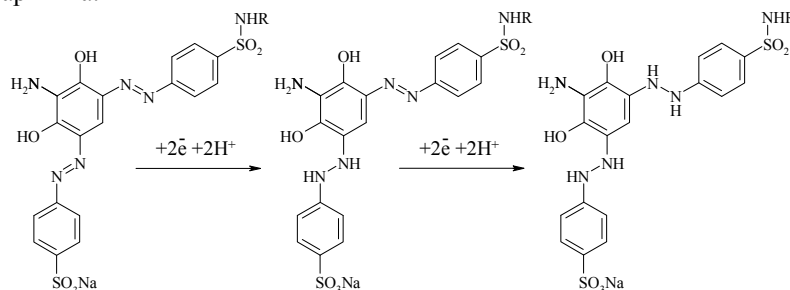
Одержані експериментальні дані щодо кількості електронів та іонів гідрогену, розрахованої для чотирьох катодних піків розчину нітрованого Тр О, підтверджують відновлення нітросо- та азогруп у відповідні амінопохідні. Занижене ж значення кількості електронів, які беруть участь у відновленні азогрупи, можна пояснити недостатньою роздільною здатністю методу, яка не дає змоги зафіксувати поетапне приєднання кожного з електронів. У таких випадках однозначна відповідь щодо кількості електронів можлива лише вразі проведення додаткових кулонометричних досліджень.

Як підсумок одержаних експериментальних даних щодо розрахованої кількості перенесених електронів та приєднаних іонів гідрогену нижче ми пропонуємо схему електрохімічного відновлення нітрованого дисазобарвника. Першим етапом електрохімічного перетворення нітрованого дисазобарвника є відновлення нітрозогрупи (пік 5). Це перетворення є двостадійним, причому на першій стадії ми фіксуємо приєднання трьох іонів гідрогену з перенесенням двох електронів, що відповідає утворенню відповідного імінопохідного:



У випадку нітрозогрупи дисазобарвника другу стадію її відновлення ми зафіксувати не можемо через малу роздільну здатність методу, а також через високу реакційну здатність відповідного імінопохідного. Проте, згідно з літературними даними [28], продуктом відновлення нітрозогрупи у водному розчині не може бути іміногрупа, а лише відповідний амін.

На другому етапі електрохімічного перетворення нітрованого дисазобарвника відбувається відновлення азогрупи, яка попередньо належала Tr O (пік 4), імовірно, до гідразогрупи. Чи відбувається подальше відновлення утвореної гідразогрупи до відповідних амінів, однозначно стверджувати не можна, оскільки накладається катодний пік другої азогрупи нітрованого дисазобарвника, утвореної внаслідок азосполучення (пік 6). Завершальним етапом електрохімічного перетворення нітрованого дисазобарвника є відновлення другої азогрупи (пік 6). Ми припускаємо, що відновлення цієї азогрупи відбувається також постадійним приєднанням кожного з чотирьох електронів з розривом $-N=N-$ зв'язку, аналогічно до азогрупи Tr O. Підставою для такого припущення є розрахована кількість іонів гідрогену (3), оскільки така їхня кількість надто велика, щоб продуктом відновлення був відповідний гідразид. Проте в більш лужному середовищі (при $\text{pH} \geq 10,5$) через нестачу іонів гідрогену одностадійне відновлення до гідразиду є можливим. Отже, ми пропонуємо таку схему електрохімічного перетворення азогруп нітрованого дисазобарвника:



Нами встановлено, що висота піка б лінійно залежить від концентрації сульфадиметоксину в розчині (рис. 6). Додатковою перевагою використання піка б в кількісному аналізі є його положення на вольтамперограмі за найбільш від'ємного потенціалу $E_k^n = -1,01$ В. Це усуває можливість накладання катодних піків можливих електроактивних супутніх речовин (наприклад, барвників, які є в лікарських формах чи продуктах харчування), а також полегшує вимірювання аналітичного сигналу завдяки чіткій формі самого піка та ділянки струму фону.

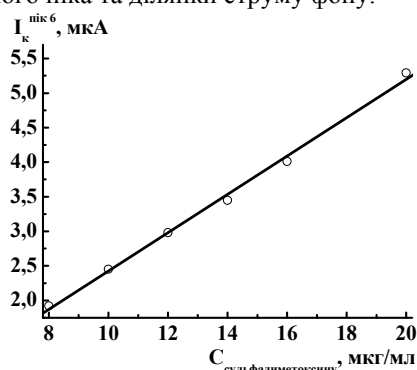


Рис. 6. Залежність аналітичного сигналу від концентрації аналіту при взаємодії СДМ з Тр О, $C_{\text{HCl}} = 0,5$ М, $C_{\text{NaNO}_2} = 1,25 \cdot 10^{-2}$ М, $C_{\text{TrO}} = 9,0 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7} = 0,01$ М, рН = 10,5, $E_k^n = -1,01$ В.

У табл. 2 наведено метрологічні характеристики вольтамперометричного визначення СДМ з використанням Тр О [29].

Таблиця 2

Метрологічні характеристики вольтамперометричного визначення СДМ з використанням Тр О. ($C_{\text{HCl}} = 0,5$ М, $C_{\text{NaNO}_2} = 1,25 \cdot 10^{-2}$ М, $C_{\text{TrO}} = 9,0 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7} = 0,01$ М, рН = 10,5, $E_k^n = -1,01$ В, $V = 1,0$ В/с).

Лінійність, М (мкг/мл)	Рівняння графіка, С, М (мкг/мл)	$C_{\text{мін}}$, М (мкг/мл)	$C_{\text{н}}$, М (мкг/мл)	R
$2,6 \cdot 10^{-5} - 6,4 \cdot 10^{-5}$ (8,0 – 20,0)	$I_k = -0,347 + 8,60 \cdot 10^{-4} \cdot C$ ($I_k = -0,347 + 0,277 \cdot C$)	$3,2 \cdot 10^{-6}$ (1,0)	$2,1 \cdot 10^{-5}$ (6,5)	0,9983 (0,9983)

Як бачимо, методика дає змогу визначити мікрограмові кількості СДМ у лікарських препаратах. Крім того, вона є досить експресною та простою у виконанні.

Методика вольтамперометричного визначення сульфадиметоксину за піком відновлення азогрупи дисазобарвника

До мірної колби місткістю 25,0 мл послідовно вносять 5,0 мл 0,5 М розчину НСІ, аліквотну частину досліджуваного розчину, що містить 200–500 мкг СДМ, додають 1,5 мл $1,25 \cdot 10^{-2}$ М розчину NaNO_2 . Отриману суміш перемішують і витримують за кімнатної температури упродовж 20 хв, після чого додають 1,5 мл $1,5 \cdot 10^{-3}$ М водного розчину Тр О, 2,5 мл 0,1 М розчину $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ та встановлюють рН = 10,5, використовуючи розчин NaOH . Вміст колби доводять до позначки дистильованою водою і перемішують розчин. Після цього досліджуваний розчин вносять в електролітичну комірку і видаляють розчинений кисень продуванням очищеного аргону впродовж 10 ± 1 хв. Вольтамперограму реєструють за кімнатної температури (~ 20 °С) у діапазоні потенціалів $E_{\text{плоч}} = -0,2$ В і $E_{\text{кін}} = -1,5$ В за швидкості накладання напруги поляризації $V = 1,0$ В/с. Вміст СДМ розраховують за висотою піка при $E_k^n = -1,01$ В за попередньо отриманим градуйованим графіком або способом порівняння.

Правильність запропонованої вольтамперометричної методики перевіряли в ході визначення вмісту СДМ у таблетках “Сульфадиметоксин” ВАТ “Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод”.

Приготування робочого розчину стандартного зразка (РСЗ). 100 мг субстанції СДМ (точна наважка) розчиняють у 50 мл 0,1 М розчину натрій гідроксиду в мірній колбі номінальним об’ємом 100,0 мл, доводять об’єм тим самим розчинником до мітки. Отриманий робочий РСЗ містить 1,0 мг/мл СДМ. Цей розчин розводять у десять разів 0,1 М розчином натрій гідроксиду й отримують розчин із концентрацією 0,1 мг/мл СДМ.

Приготування розчину робочого досліджуваного зразка (РДЗ) препарату у формі таблеток. У порцеляновій ступці розтирають двадцять таблеток до порошку, відбирають наважку, що містить 100 мг СДМ згідно із вмістом у препараті, вносять до мірної колби місткістю 100,0 мл, додають 50 мл 0,1 М розчину натрій гідроксиду для отримання витяжки СДМ, перемішують упродовж 10 хв. та доводять вміст колби до мітки тим же розчинником. Отриману суміш перемішують і фільтрують крізь складчастий фільтр середньої пористості в конічну колбу (вихідний розчин). Робочий розчин СДМ готують розведенням вихідного розчину в десять разів, для чого 5,0 мл отриманого розчину вносять у мірну колбу місткістю 50,0 мл, об’єм розчину доводять до мітки 0,1 М розчином натрій гідроксиду і перемішують.

Як допоміжні речовини препарат містив крохмаль, желатин, аеросил, кальцій стеарат. Як бачимо з вольтамперограм на рис. 7, допоміжні речовини не заважають визначенню СДМ.

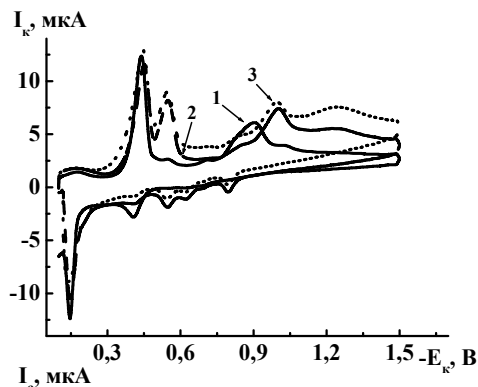


Рис. 7. Циклічні вольтамперограми розчинів: 1 – нітрованого Тр О; 2 – нітрованого дисазобарвника; 3 – нітрованого дисазобарвника, утвореного в реальному об’єкті (розчин таблеток “Сульфадиметоксин”). $C_{\text{HCl}} = 0,5 \text{ M}$, $C_{\text{СДМ}} = 4,5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{NaNO}_2} = 1,25 \cdot 10^{-2} \text{ M}$,

$$C_{\text{ТрО}} = 9,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}, C_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7} = 0,01 \text{ M}, \text{pH} = 10,5.$$

Вміст СДМ Z , мг/табл., для таблеток розраховують за формулою

$$Z = \frac{I_{np} \times m_{C3} \times P_{C3} \times m}{I_{C3} \times m_{np} \times 100},$$

де m_{C3} – точна маса наважки стандартного зразка (СЗ) СДМ, використана для приготування розчину його РСЗ, мг; m_{np} – маса наважки препарату, що містить СДМ, мг; I_{C3} – значення струму катодного піку ($E_k^n = -1,01 \text{ В}$) РСЗ; P_{C3} – вміст основної речовини СДМ у СЗ згідно зі сертифікатом якості фірми-виробника, %; I_{np} – значення струму катодного піку ($E_k^n = -1,01 \text{ В}$) розчину РДЗ препарату; m – середня маса таблетки, мг; 100 – фактор перерахунку відсотків у частки одиниці.

Результати визначення вмісту СДМ у таблетках "Сульфадиметоксин" наведені у табл. 3.

Таблиця 3

Результати визначення СДМ у таблетках, $P = 0,95$; $n = 5$

Регламентований вміст у таблетках "Сульфадиметоксин", мг/табл	Встановлений вміст $\bar{x} \pm \frac{S \cdot t_{\alpha}}{\sqrt{n}}$ (S_r), мг/табл		
	Нітритометрично [30]	спектрофотометрично з Тр О [26]	вольтамперометрично з Тр О
500±50	501±8 (0,013)	499±8 (0,013)	499±7 (0,011)

Як бачимо з табл. 3, результати вольтамперометричного визначення СДМ з використанням Тр О добре узгоджуються з результатами, отриманими за незалежними нітритометричною і спектрофотометричною методиками.

Отже, використання запропонованої методики вольтамперометричного визначення СДМ за допомогою Тр О дає змогу підвищити точність його визначення інструментальними методами у складі готових лікарських форм, в тому числі забарвлених та каламутних розчинів, а також спростити та здешевити аналіз.

1. Сульфадиметоксин [Електронний ресурс]. [Цит. 2015, 24 жовтня]. Режим доступу: <https://uk.wikipedia.org/wiki/Сульфадиметоксин>.
2. Voorhies J. D., Adams R. N. Voltammetry solid electrodes: anodic polarography of sulfa drugs // Anal. Chem. 1958. Vol. 30. N. 3. P. 346–350.
3. Bishop E., Hussein W. Electroanalytical studies of antibacterial and diuretic drugs at rotating disc electrodes of gold and platinum // Analyst. 1984. Vol. 109. N. 7. P. 913–921.
4. Pingarron Carrazon J. M., Corona P., Polo Diez L. M. Electroanalytical study of sulphadiazine at solid electrodes: determination in pharmaceutical preparations // Electrochim. Acta. 1987. Vol. 32. N. 11. P. 1573–1575.
5. Momberg V. A., Carrera M. E., von Baer D. et al. The oxidative voltammetric behaviour of some sulphonamides at the glassy carbon electrode // Anal. Chim. Acta. 1984. Vol. 159. P. 119–127.
6. Braga O. C., Campestrini I., Vieira I. C. et al. Sulfadiazine determination in pharmaceuticals by electrochemical reduction on a glassy carbon electrode // J. Braz. Chem. Soc. 2010. Vol. 21. N. 5. P. 813–820.
7. Ozkorucuklu S. P., Sahin Y., Alsancaak G. Voltammetric behaviour of sulfamethoxazole on electropolymerized-molecularly imprinted overoxidized polypyrrole // Sensors. 2008. Vol. 8. N. 12. P. 8463–8478.

8. *Joseph R., Kumar K. G.* Differential pulse voltammetric determination and catalytic oxidation of sulfamethoxazole using [5,10,15,20- tetrakis (3-methoxy-4-hydroxy phenyl) porphyrinato] Cu (II) modified carbon paste sensor // *Drug Testing and Analysis*. 2010. Vol. 2. N. 6. P. 278–283.
9. *Issac S., Kumar K. G.* Voltammetric determination of sulfamethoxazole at amultiwalled carbon nanotube modified glassy carbon sensor and its application studies // *Drug Testing and Analysis*. 2009. Vol. 1. N. 7. P. 350–354.
10. *Souza C. D., Braga O. C., Vieira I. C.* et al. Electroanalytical determination of sulfadiazine and sulfamethoxazole in pharmaceuticals using a boron-doped diamond electrode // *Sensor. Actuat. B-Chem*. 2008. Vol. 135. N. 1. P. 66–73.
11. *Campestrini I., de Braga O. C., Vieira I. C.* et al. Application of bismuth-film electrode for cathodic electroanalytical determination of sulfadiazine // *Electrochim. Acta*. 2010. Vol. 55. N. 17. P. 4970–4975.
12. *Kotoucek M., Cechova I., Novakova J.* Analytical use of polarographic reduction of sulfonamides // *Cesko-Slovenska Farmacie*. 1991. Vol. 40. N. 2. P. 53–56.
13. *Ren M.* Voltammetric determination of sulfonamides in milk // *Chemia Analityczna*. 2004. Vol. 49. N. 1. P. 59–70.
14. *Msagati T. A. M., Ngila J. C.* Voltammetric detection of sulfonamides at a poly (3-methylthiophene) electrode // *Talanta*. 2002. Vol. 58. N. 3. P. 605–610.
15. *Kotouček M., Skopalová J., Michálková D.* Electroanalytical study of salazo-sulfapyridine and bisepitol components at the mercury electrode // *Anal. Chim. Acta*. 1997. Vol. 353. N. 1. P. 61–69.
16. *Fogg A. G., Yusoff A. R. H. M., Moreira J. C.* et al. Cathodic stripping voltammetric determination of sulfonamides as copper (I) complexes at a hanging mercury drop electrode // *Anal. Proc*. 1995. Vol. 32. N. 3. P. 95–97.
17. *Fogg A. G., Yusoff A. R. H. M., Ahmad R.* Use of ethylenediaminetetraacetic acid as a pH buffer to prevent copper (II) interference by complexation in the cathodic stripping voltammetric determination of reducible organic compounds at a hanging mercury drop electrode: determination of sulfasalazine in the presence of sulfadimidine // *Anal. Proc*. 1995. Vol 2. N. 5. P. 189–191.
18. *Fogg A. G., Yusoff A. R. H. M., Ahmad R.* Copper (II) interference by complexation in cathodic stripping voltammetry: accumulation of sulfachloropyridazine as its copper (I) complex to increase the sensitivity of its direct determination at a hanging mercury drop electrode and to overcome interference from copper (II) // *Anal. Proc*. 1995. Vol. 32. N. 8. P. 337–340.
19. *Sabry S. M.* Polarographic and voltammetric assays of sulfonamides as α -oxo- γ -butyrolactone arylhydrazones // *Anall. Lett*. 2007. Vol. 40. N. 2. P. 233–256.
20. *Fogg A. G., Ahmed Y. Z.* Determination of sub-micromolar concentrations of sulphonamides by differential pulse polarography after diazotization and coupling with 1-naphthol // *Anal. Chim. Acta*. 1974. Vol. 70. N. 1. P. 241–244.
21. *Malik W. U., Dua P. N.* Polarographic reduction of some antibacterial compounds formed by the coupling of sulpha drugs with 8-hydroxyquinoline // *J. Electroanal. Chem*. 1982. Vol. 132. P. 211–219.
22. *Fogg A. G., Fayad N. M.* Spectrophotometric and differential pulse polarographic determinations of sulphaguanidine by reaction with hypochlorite and phenol // *Anal. Chim. Acta*. 1979. Vol. 106. N. 2. P. 365–367.

23. *Berzas J. J., Rodriguez J., Lemus J. M. et al.* Adsorptive stripping voltammetric behaviour of sulphamethoxazole using differential-pulse and square-wave techniques // *Anal. Chim. Acta.* 1993. Vol. 273. N. 1–2. P. 369–375.
24. *Liang Y., Liu Z., Sun J.* Quantitative determination of sulfamethoxazole by second derivative differential pulse polarography // *Fenxi Huaxue.* 2000. Vol. 28. N. 9. P. 1138–1139.
25. *Diaz G., Cabanillas T. G., Acedo A. et al.* Polarographic behaviour of sulfadiazine, sulfamerazine, sulfamethazine and their mixtures. Use of partial least squares in the resolution of the non-additive signals of these compounds // *Analyst.* 1996. Vol. 121. N. 4. P. 547–552.
26. *Boiko 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. Vol. 79A. N 2. P. 325–331.
27. *Бойко М. Я.* Моноазобарвники та гетероциклічні азосполуки як аналітичні реагенти для спектрофотометричного визначення сульфаніламідів: дис. ... канд. хім. наук. Львів, 2013.
28. *Органическая электрохимия.* / Пер. с англ. под ред. В.А. Петросяна М., 1988. 392 с.
29. Пат. 101201, МПК⁵¹ G01N 27/26 (2006.01) G01N 27/48 (2006.01). Спосіб вольтамперометричного визначення сульфадиметоксину / Коркуна О. Я., Ридчук П. В., Врублевська Т. Я., Смолінська М. Я. Заявка № u201503222 від 06.04.2015. Опубл. 25.08.2015, Бюл. №.16.
30. *Державна Фармакопея України.* Доп. 1. X.: РІГЕР, 2004. 495 с.

VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF SULPHADIMETOXINE USING MONO AZO DYES TROPAEOLIN O

O. Korkuna¹, P. Rydchuk¹, T. Vrublevska¹, M. Smolinska²

¹*Ivan Franko Lviv National University,
Kyryla & Mefodiya Str., 6, 79005 Lviv, Ukraine*

²*State Scientific Research Control Institute of Veterinary
Preparations and Fodder Additives,
Donetska Str., 11, 79019 Lviv, Ukraine,
e-mail: olga_korkuna@yahoo.com*

The method of oscillographic polarographic determination of sulphadimethoxine (SDM) using azo dye tropaeolin O (Tr O) has been developed. It is based on the previous diazotization of primary aromatic amino group of sulphadimethoxine using more than 10-fold excess of sodium nitrite as diazotizing reagent in the 0.5 M hydrochloric acid medium with the following sulphadimethoxine diazonium salt azocoupling with nitrosated at the reaction conditions azo dyes tropaeolin O (1.5-fold excess towards SDM) in the alkaline medium at pH 10.5 at the presence of 0.01 M sodium tetraborate.

Polarographic researches were performed using an oscillopolarograph CLA model 03 with an additional computerized equipment and a three-electrode thermostated cell with an indicator mercury dropping electrode, auxiliary platinum electrode and the reference saturated calomel electrode (linear potential range from -0.2 to -1.5 V by the defined conditions: potential sweep rate – 1.0 mV/s, the delay imposition voltage – 4.0 sec).

On voltammogram of electrochemical reduction of synthesized nitrosated disazo dye the four cathode peaks at such voltages: $E_c^p = -0.45$ V, $E_c^p = -0.55$ V, $E_c^p = -0.86$ V, $E_c^p = -1.01$ V are observed. Cathode peaks at potentials $E_c^p = -0.45$ V and $E_c^p = -0.86$ V are also present in voltammogram of "blank solution", which contains tropaeolin O as well as nitrite ions are corresponding to two-stage reduction of nitroso and azo groups of reagent. Cathode peaks at the voltages $E_c^p = -0.55$ V and $E_c^p = -1.01$ V in turn, correspond to two-stage reduction of nitroso and azo groups of formed nitrosated disazo dye.

It was established that the current nature of the cathode peaks for nitrosated disazo dye reduction is adsorptive because the values of slope ratios of the $\lg I_k^n - \lg V$ dependence (Semerano criterion) exceeds 0.5. It was shown that the electrochemical conversion of nitroso and azo groups of nitrosated disazo dye occurs via the hydrogen ions presence. The number of electrons as well as the number of hydrogen ions, which are involved in the reduction of nitroso and azo groups has been calculated. Based on experimental data the mechanism of electrochemical reduction of nitrosated disazo dye has been proposed.

At the first stage of the electrochemical conversion of nitrosated disazo dye is reduction of nitroso group. This transformation is a two-stage, with the formation of imino derivative at the first stage and the following formation of corresponding amine at the second stage.

At the second stage of nitrosated disazo dye electrochemical conversion the reduction of azo group which previously belonged to Tr O, to hydrazo group probably takes place. About further reduction of the formed hydrazo group to corresponding amine we can not say definitely, because the cathodic peak of reduction of the second azo group of nitrosated disazo dye, which was formed during the azocoupling is overlay. The final stage of the electrochemical conversion of nitrosated disazo dye is reduction of the second azo group. We assume that reduction of this azo group is also stepwise bonding of each from the four electrons with the destruction of -N=N- bond, similar to azo group of tropaeolin O.

The height of the reduction peak of azo group, which was formed as a result of azocoupling of diazotized sulphadimethoxine with nitrosated Tr O at voltage $E_c^p = -1.01$ V is recommended use as analytical signal. Linear ranges for sulphadimethoxine determination is $3.6 \cdot 10^{-5} - 6.4 \cdot 10^{-5}$ M. The technique allows to determine the micrograms amount of sulphadimethoxine ($C_{LO} = 2.1 \cdot 10^{-5}$ M); is simple in execution with available equipment. The possibility to analyze the colored and turbid solutions is also advantage of polarographic analysis.

Elaborated voltammetric method was successfully tested at the determination of the sulphadimethoxine content in tablets "Sulphadimethoxine" ($S_f = 0.011$), which contain the following excipients: starch, gelatin, aerosil, calcium stearate. Obtained data of polarographic determination are well correlated to those obtained using the official methods of nitritometry and spectrophotometry. So the recommended polarographic procedure is well-suited for the sulphadimethoxine assay in objects with a simple matrix.

Key words: diazotization, azocoupling, sulphadimethoxine, tropaeolin O, voltammetry.

Стаття надійшла до редколегії 27.10.2015

Прийнята до друку 12.01.2016