

УДК 543.42.063

## СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУЛЬФАНИЛАМИДОВ ПО РЕАКЦИИ КОНДЕНСАЦИИ С *n*-ДИМЕТИЛАМИНОКОРИЧНЫМ АЛЬДЕГИДОМ

Е.В. Клокова, С.Г. Дмитриенко

*(кафедра аналитической химии; e-mail: dmitrienko@analyt.chem.msu.ru)*

**В качестве спектрофотометрического реагента для определения сульфаниламидов предложен *n*-диметиламинокоричный альдегид. Показано, что в ацетонитриле этот реагент вступает в реакцию конденсации с сульфаниламидом, сульфаметоксипиридазином, сульфаклорпиридазином, сульфаметоксазолом и сульфаметазином с образованием окрашенных продуктов. Найден оптимальные условия проведения реакции. Разработана методика спектрофотометрического определения сульфаниламидных веществ с пределами обнаружения  $n \cdot 10^{-2}$  мкг/мл. Проведено определение сульфаметоксазола и сульфаметазина в лекарственных препаратах.**

Сульфаниламиды (СА) – производные *n*-аминобензолсульфаниловой кислоты – находят широкое применение в фармацевтической практике как эффективные антибактериальные средства. Безопасное и эффективное использование этих лекарственных препаратов требует тщательного контроля дозировок, поскольку соединения токсичны. Это обстоятельство предполагает определение сульфаниламидов в различных биологических образцах: биологических жидкостях, плазме крови, срезах тканей. В связи с этим, а также в связи с участившимися случаями фальсификации лекарственных препаратов возрастает потребность в быстрых и надежных средствах определения качественного и количественного состава сульфаниламидов в лекарственных формах и биологических жидкостях.

Для определения сульфаниламидов используют спектрофотометрические [1–8], флуориметрические [9, 10], хроматографические [11–13], иммунохимические [14–17], электроаналитические [18, 19], титриметрические [20, 21], а также микробиологические методы [22, 23]. Большинство спектрофотометрических методик определения сульфаниламидов в фармацевтических препаратах основано на реакциях диазотирования и последующего азосочетания с 3-аминофенолом [3], иминодибензилом [4], прометазин гидрохлоридом (в присутствии *N*-бромсукцинимидом) [5], 8-гидроксихинолином [6] и другими реагентами [7, 8]. Существенным недостатком методик является их двухстадийность.

Цель настоящей работы состояла в изучении реакции конденсации сульфаниламидов с *n*-диметилами-

нокоричным альдегидом (ДМАКА) в среде ацетонитрила и в разработке спектрофотометрической методики их определения в виде окрашенных продуктов. Ранее этот реагент использовали для спектрофотометрического определения первичных ароматических аминов [24, 25].

### Экспериментальная часть

**Объекты исследования, реагенты и аппаратура.** Объектами исследования служили сульфаниламид, сульфаметоксипиридазин, сульфаклорпиридазин, сульфаметоксазол и сульфаметазин (“Sigma”). Исходные растворы сульфаниламидов (0,01 М) готовили растворением их точных навесок в ацетонитриле. Для приготовления рабочих растворов исходные растворы разбавляли непосредственно перед использованием.

В качестве спектрофотометрического реагента использовали 4-(*N,N*-диметиламино)-коричный (*n*-диметиламинокоричный) альдегид (ДМАКА) (ACROS). Исходный раствор ДМАКА (0,01 М) готовили растворением точной навески реагента в ацетонитриле. Спектры поглощения и оптические плотности растворов регистрировали на спектрофотометре “СФ-103” (“Аквилон”, Россия), значения рН контролировали на иономере “Эксперт 001” (Россия).

### Результаты и их обсуждение

**Оптимизация условий реакции конденсации сульфаниламидов с ДМАКА.** Известно, что сульфаниламиды вступают в реакции конденсации с ароматическими альдегидами [2]. Чаще всего для спект-

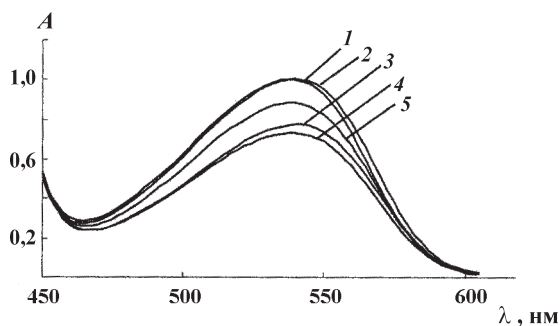


Рис. 1. Спектры поглощения продуктов конденсации сульфаниламида (1), сульфаметоксипиридазина (2), сульфаклорпиридазина (3), сульфаметоксазола (4) и сульфаметазина (5) с *n*-диметиламинкоричным альдегидом в ацетонитриле,  $C_{\text{СА}} = 2 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{ДМАКА}} = 2 \cdot 10^{-3}$  М,  $C_{\text{НСл}} = 0,02$  М, 10 об.%  $\text{H}_2\text{O}$

рофотометрического определения сульфаниламидов применяют реакцию конденсации с *n*-диметилбензальдегидом, в результате которой образуются интенсивно окрашенные основания Шиффа. Реакцию взаимодействия сульфаниламидов с *n*-диметиламинокоричным альдегидом ранее не изучали.

В предварительных исследованиях было установлено, что проведение реакции конденсации сульфаниламидов с ДМАКА в водной среде приводит к образованию малорастворимого продукта. Напротив, в неводных средах (метанол, ацетонитрил) образуются интенсивно окрашенные растворимые продукты конденсации. Взаимодействие сульфаниламидов с ДМАКА в ацетонитриле изучено более детально. При выборе ацетонитрила учитывали, что этот растворитель часто используют на этапе пробоподготовки пищевых продуктов для извлечения сульфаниламидов [26], а также в качестве элюента в твердофазной экстракции и ВЭЖХ. Кроме того, ацетонитрил менее токсичен, чем метанол.

С целью выбора оптимальных условий реакции конденсации изучено взаимодействие сульфанилами-

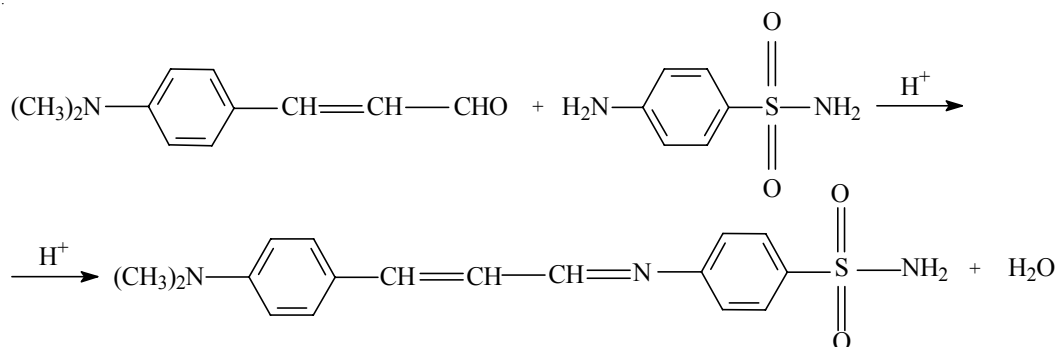
дов с ДМАКА при варьировании природы сульфаниламида, концентрации компонентов (ДМАКА, НСл), а также содержания воды. Установлено, что максимальный выход продуктов конденсации достигается в течение 10–15 мин. На рис. 1 приведены спектры поглощения продуктов конденсации сульфаниламида, сульфаметоксипиридазина, сульфаклорпиридазина, сульфаметоксазола и сульфаметазина с ДМАКА, сравнение которых показало, что спектральные характеристики продуктов конденсации практически не различаются. Максимумы поглощения находятся при 540 нм, а значения молярных коэффициентов поглощения равны  $(3,7\text{--}5,1) \cdot 10^4$ , что может быть использовано при разработке методики определения суммарного содержания сульфаниламидов.

По аналогии с известными литературными данными о механизме взаимодействия сульфаниламидов с *n*-диметилбензальдегидом и ароматических аминов с ДМАКА [2, 24, 25] можно предположить, что сульфаниламиды вступают во взаимодействие с ДМАКА в соответствии со схемой.

Немаловажным фактором, влияющим на выход окрашенных продуктов, является содержание воды в системе. Для всех изученных сульфаниламидов оптическая плотность достигала максимального значения в растворах, содержащих 10% воды, увеличение содержания воды от 10 до 60% приводило к ее уменьшению.

Установлено, что на выход продуктов конденсации оказывает влияние концентрация соляной кислоты (рис. 2) и ДМАКА (рис. 3). Максимальный выход продуктов конденсации наблюдается в интервале концентрации НСл, равном 0,020–0,025 М при постоянной концентрации ДМАКА, равной  $2 \cdot 10^{-3}$  М. При выборе оптимальной концентрации ДМАКА учитывали, что время контрольного опыта заметно увеличивается при росте концентрации реагента от  $1 \cdot 10^{-3}$  до  $1,5 \cdot 10^{-2}$  М.

Схема



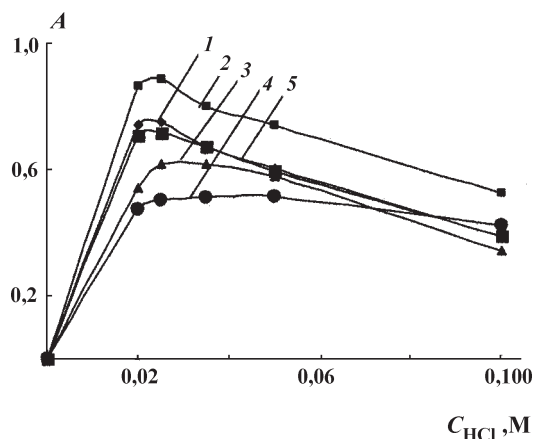


Рис. 2. Зависимость оптической плотности продукта конденсации сульфаниламида (1), сульфаметоксипиридазина (2), сульфаклорпиридазина (3), сульфаметоксазола (4) и сульфаметазина (5) с *n*-диметиламинокоричным альдегидом от концентрации соляной кислоты,  $C_{\text{ДМАКА}} = 2 \cdot 10^{-3}$  М,  $C_{\text{СА}} = 2 \cdot 10^{-5}$  М,  $\lambda_{\text{макс}} = 540$  нм, 10 об. %  $\text{H}_2\text{O}$

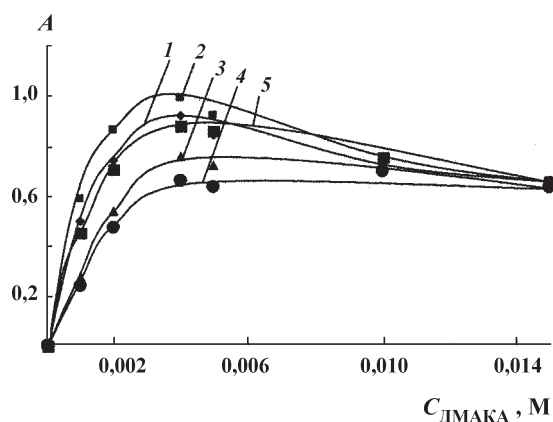


Рис. 3. Зависимость оптической плотности продукта конденсации сульфаниламида (1), сульфаметоксипиридазина (2), сульфаклорпиридазина (3), сульфаметоксазола (4) и сульфаметазина (5) с *n*-диметиламинокоричным альдегидом от концентрации альдегида,  $C_{\text{СА}} = 2 \cdot 10^{-5}$  М,  $C_{\text{HCl}} = 0,02$  М,  $\lambda_{\text{макс}} = 540$  нм, 10 об. %  $\text{H}_2\text{O}$

На основании проведенных исследований выбраны оптимальные условия реакции конденсации сульфаниамидов с ДМАКА в среде ацетонитрила:  $C_{\text{HCl}} = 0,02$  М,  $C_{\text{ДМАКА}} = 2 \cdot 10^{-3}$  М, 10 об. %  $\text{H}_2\text{O}$ , время развития окраски продукта 15 мин.

**Методика определения сульфаниамидов.** Для построения градуировочных графиков готовили серию растворов, содержащих от  $2 \cdot 10^{-6}$  до  $2 \cdot 10^{-5}$  М (0,34–

5,7 мкг/мл) сульфаниамида. К каждому раствору добавляли последовательно по 0,5 мл 0,2 М раствора соляной кислоты, 1 мл 0,01 М раствора ДМАКА в ацетонитриле и ацетонитрил (до 5 мл). Измеряли оптическую плотность растворов при 540 нм. Метрологические характеристики методик определения приведены в табл. 1. Пределы обнаружения, рассчитанные по 3S-критерию, составляли 40, 80, 110, 110 и 100 нг/мл для сульфаниамида, сульфаметоксипиридазина, сульфаклорпиридазина, сульфаметоксазола и сульфаметазина соответственно. Таким образом, методика позволяет определять сульфаниамиды на уровне 0,4–1,0 ПДК для вод. Правильность спектрофотометрических методик определения сульфаниамидов была проверена методом “введено-найдено” на модельных смесях (табл. 2).

**Определение сульфаниамидов в лекарственных препаратах.** Для оценки возможности практического применения спектрофотометрической методики проведено определение сульфаметоксазола в лекарственном препарате “Бисептол” и сульфаметазина в препарате “Зинаприм” (этот препарат применяется в ветеринарии). Было показано, что триметоприм, входящий в состав препаратов, не вступает в реакцию конденсации с *n*-диметиламинокоричным альдегидом.

Таблетку “Бисептола” (0,6723 г) измельчали и растворяли в 100 мл ацетонитрила. Для определения брали аликвотную часть этого раствора. Методом добавок найдено, что в лекарственном препарате содержится  $405 \pm 60$  мг сульфаметоксазола ( $s_r = 0,06$ ), что согласуется с данными, заявленными производителем (400 мг в 1 таблетке).

Лекарственный препарат “Зинаприм”, который представляет собой раствор для инъекций, разбавляли и проводили определение сульфаметазина методом градуировочного графика. Найдено, что в препарате содержится  $190 \pm 20$  мг ( $s_r = 0,04$ ), что также согласуется с указанным на упаковке содержанием (200 мг/мл).

Таким образом, проведенные исследования показали возможность использования *n*-диметиламинокоричного альдегида в качестве спектрофотометрического реагента для определения сульфаниамидов. Разработанная методика отличается низкими пределами обнаружения, простотой и хорошей воспроизводимостью.

Т а б л и ц а 1

**Метрологические характеристики спектрофотометрических методик определения сульфаниламидов с *п*-диметиламинокоричным альдегидом**

Вещество	Уравнение градуировочного графика (М)	Диапазон определяемых содержаний, М (мкг/мл)	$C_{\text{мин}}$ , М (мкг/мл)
Сульфаниламид	$y = 46887 C$	$7,8 \cdot 10^{-7} - 2 \cdot 10^{-5}$ (0,12 – 3,4)	$2,6 \cdot 10^{-7}$ (0,04)
Сульфаметоксипиридазин	$y = 42272 C$	$8,4 \cdot 10^{-7} - 2 \cdot 10^{-5}$ (0,24 – 5,6)	$2,8 \cdot 10^{-7}$ (0,08)
Сульфахлорпиридазин	$y = 30213 C$	$1,2 \cdot 10^{-6} - 2 \cdot 10^{-5}$ (0,33 – 5,7)	$4,0 \cdot 10^{-7}$ (0,11)
Сульфаметоксазол	$y = 27405 C$	$1,3 \cdot 10^{-6} - 2 \cdot 10^{-5}$ (0,33 – 5,1)	$4,4 \cdot 10^{-7}$ (0,11)
Сульфаметазин	$y = 34196 C$	$1,1 \cdot 10^{-6} - 2 \cdot 10^{-5}$ (0,30 – 5,6)	$3,5 \cdot 10^{-7}$ (0,10)

Т а б л и ц а 2

**Проверка правильности методики определения сульфаниламидов методом “введено-найдено” ( $n = 3$ ;  $P = 0,95$ )**

Вещество	Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	$s_r$
Сульфаниламид	3,4	$3,3 \pm 0,5$	0,06
Сульфаметоксипиридазин	5,6	$5,4 \pm 0,7$	0,05
Сульфахлорпиридазин	5,7	$5,5 \pm 0,4$	0,03
Сульфаметоксазол	5,1	$5,1 \pm 0,4$	0,03
Сульфаметазин	5,6	$5,3 \pm 0,5$	0,04

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беликов В.Г. // Рос. хим. ж. 2002. **36**. С. 52.
2. Коренман И. М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений. М., 1970.
3. Nagaraja P., Yathirajan H. S., Raju C. R., Vasantha R. A., Nagendra P., Hemantha Kumar M.S. // Farmaco. 2003. **58**. P. 1295.
4. Nagaraja P., Kallanchira R. S., Ramanathapura A. V., Hemmige S. Y. // Eur. J. Pharm. and Biopharm. 2002. **53**. P. 187.
5. Dinesh N. D., Nagaraja P., Rangappa K. S. // J. Indian Chem. Soc. 2003. **80**. P. 934.
6. Nagaraja P., Naik S., Shrestha A. K., Shivakumar A. // Acta Pharm. 2007. **57**. P. 333.
7. Amin A. S., Elsayed G. O., Issa Y. M. // Microchem. J. 1995. **51**. P. 367.
8. Amin A. S., Zareh M. M. // Mikrochim. Acta. 1996. **124**. P. 227.
9. Mora Diez N., Pena A. M., Mahedero M.C. // J. Fluoresc. 2007. **22**. P. 309.
10. Pena M. S., Salinas F., Mahedero M. C., Aaron J. J. // J. Pharm. Biomed. Anal. 1992. **10**. P. 805.
10. Heller D., Ngoh M., Donoghue D., Podhorniak L., Righter

- H., Thomas M.* // *J. Anal. Bioanal. Chem.* 2003. **376**. P. 534.
11. *Papapanagiotou E. P., Iossifidou E. G., Promas I. P., Photis G.* // *J. Liquid Chromatogr&Rel. Techn.* 2000. **23**. P. 2839.
12. *Kishida K., Furusawa N.* // *J. Chromatogr. A.* 2001. **937**. P. 49.
13. *Fleeker J. R., Lovett L. J.* // *J. Assoc. Anal. Chem.* 1985. **68**. P. 172.
14. *Singh P., Ram B. P., Sharkov N.* // *Agric. Food Chem.* 1989. **37**. P. 109.
15. *Sprinks C. A., Schut C. G., Wyatt G. M., Morgan M. R. A.* // *J. Food Additives and Contaminants.* 2001. **18**. P. 11.
16. *Lee N., Holtzapple C., Muldon M., Deshpande S., Stanker L.* // *J. Food Agric. Immunol.* 2001. **13**. P. 5.
17. *Flurer C. L.* // *Electrophoresis.* 1997. **18**. P. 2427.
18. *Msgati T. A. M., Ngila J. C.* // *Talanta.* 2002. **58**. P. 605.
19. *Глуценко Н.Н., Плетнева Т.В., Попков В.А.* Фармацевтическая химия. М., 2004.
20. *Беликов В.Г.* Фармацевтическая химия. Ч. 2. Специальная фармацевтическая химия. Пятигорск, 1996. С. 229.
21. *Crabbe P., Haasnoot W., Kohen F., Salden M., Van Peteghem C.* // *Analyst.* 1999. **124**. P. 1569.
22. *Molina M., Althaus R., Molina A., Fernandez N.* // *J. Int. Dairy.* 2003. **10**. P. 821.
23. *Доронин С. Ю., Чернова Р. К., Гусакова Н. Н.* // *ЖАХ.* 2005. **60**. С. 471.
24. *Доронин С. Ю., Чернова Р. К., Гусакова Н. Н.* // *ЖАХ.* 2004. **59**. С. 377.
25. *Ming-Ren S. Fuh, Chu S-Y.* // *Anal. Chim. Acta.* 2003. **499**. P. 215.

Поступила в редакцию 14.02.08.

## SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF SULFONAMIDES BY CONDENSATION REACTION WITH *n*-DIMETHYLAMINOCINNAROIC ALDEHYDE

E.V. Klokova, S.G. Dmitrienko

*(Division of Analytical Chemistry)*

**p-Dimethylaminocinnaroic aldehyde has been suggested as a spectrophotometric reagent for the determination of sulfonamides. It has been shown that this reagent enter into a condensation reaction with sulfanilamide, sulfamethoxy pyridazin, sulfachlorpyridazine, sulfamethoxazole and sulfamethazine to form coloured products. The optimum conditions for the condensation reaction of sulfonamides with p-dimethylaminocinnaroic aldehyde have been found. Spectrophotometric method for the determination of sulfonamides with detection limits  $n \cdot 10^{-2} \text{ mg mL}^{-1}$  has been developed. Sulfamethoxazole and sulfamethazine have been determined in some pharmaceutical products.**