

Рекомендована д. фармац. наук, проф. С. О. Васюк

УДК 543.422.3:[547.541.521+547.565]

## СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧАННЯ СУЛЬФАТІАЗОЛУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЛЮДИНИ З ВИКОРИСТАННЯМ АЗОРЕАГЕНТІВ

© М. Я. Бойко<sup>1,2</sup>, І. Я. Коцюмбас<sup>1</sup>, О. Я. Коркуна<sup>2</sup>, С. М. Мелікян<sup>1</sup>,  
Т. Я. Врублевська<sup>2</sup>, Г. Ю. Тесляр<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Державний науково-дослідний контрольний інститут ветпрепаратів та кормових добавок, Львів

<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка

**Резюме:** розроблено методіку спектрофотометричного визначення вмісту сульфатіазолу з використанням моноазобарвника тропеоліну О та гетероциклічної азосполуки 4-(2-піридилазо) резорцину в сироватці крові при антибактеріальній терапії хворих. Пробопідготовка зразка передбачає видалення білків з реакційної суміші осадженням перхлоратною кислотою. Аналітична реакція ґрунтується на утворенні забарвленого продукту взаємодії діазосоли сульфатіазолу з азореагентами. Отримані результати спектрофотометричного визначення сульфатіазолу з азореагентами підтверджуються результатами високоефективної рідинної хроматографії.

**Ключові слова:** спектрофотометрія, високоефективна рідинна хроматографія, сироватка крові, сульфатіазол, тропеолін О, 4-(2-піридилазо) резорцин, 4-(2-тіазолілазо) резорцин.

**Вступ.** Невпинно зростаюче використання лікарських засобів, у тому числі препаратів, що містять сульфаніламід (СА), вимагає контролю за їх дозуванням, оскільки недосаження терапевтичної дози призводить до неефективного лікування, а передозування препаратами негативно впливає на організм людини. При потрапленні у кров до 90 % СА зв'язуються і, відповідно, транспортуються білками плазми, в основному, – альбумінами. У випадках фармакокінетичного супроводу, при терапії сульфаніламідними препаратами, здійснюють контроль вмісту СА у біологічних рідинах, зокрема, у цільній крові, плазмі, частіше у сироватці, а також у сечі тощо [1, 2]. Згідно з літературними даними, з цією метою використовують виключно метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Проте конкретні методіки не завжди характеризуються задовільними результатами, оскільки пробопідготовка, що пропонується авторами методик, дозволяє вилучати не більше 75–85 % СА зі сироватки [3–5]. До того ж, визначання за допомогою методу ВЕРХ вимагає використання вартісного обладнання, реактивів. Використання методу спектрофотометрії дозволяє спростити та здешевити проведення рутинних аналізів при збереженні необхідних точності, чутливості та відтворюваності. Метою дослідження було встановлення вмісту в сироватці крові людини сульфатіазолу (СТЗ) – доволі поширеної у клінічній практиці лікарської речовини, розробленою нами методикою спектрофотометричного визна-

чення цього СА з використанням азореагентів (АР) – кислотного моноазобарвника тропеоліну О [6, 7] та гетероциклічних азореагентів 4-(2-піридилазо) резорцину (ПАР) [8] та 4-(2-тіазолілазо) резорцину (ТАР) [9].

**Методи дослідження.** Об'єктом дослідження були таблетки «Норсульфазол», 0,5 г (виробник ТзОВ «Мосхимфармпрепарати імені Н. А. Семашко», Росія). Усі розчини для визначень готували на воді високоочищеній. Розчини сульфатіазолу готували розчиненням точної наважки реактиву фармакопейної чистоти (не менше 99 %) фірми Sigma; розчини тропеоліну О готували розчиненням точної наважки реактиву фірми «Merck» (не менше 88 % основної речовини); розчин натрій нітриту та натрій тетраборату готували розчиненням точної наважки реактивів кваліфікації «ч.д.а.»; робочі розчини хлоридної кислоти готували розведенням концентрованої кислоти кваліфікації «х.ч.»; використовували перхлоратну кислоту концентрації 70 %, реактив фірми «Merck».

У роботі використовували обладнання та матеріали: спектрофотометр CARY.WIN – UV-VIS-50 (Varian, США) з кюветами  $l = 1$  см; рН-метр PB 11 (Sartorius, Німеччина) з аргентум хлоридним електродом порівняння; рідинний хроматограф ProStar 410 Autosampler system (Varian, США); центрифуга Heraeus Multifuge 1S-R (Thermo Scientific, США); завихрювач для рідких сумішей Vortex Mixer Barnstead Thermolyne Maxi Mix II; мікрофільтри типу PTFE (Millipore, США) з діамет-

ром пор 0,22 мкм; пластикові пробірки з дозованим вакуумом Venosafe (Terumo Europe N.V., Бельгія).

*Методика отримання сироватки крові для проведення досліджень*

Сироватку крові отримували, відбираючи на тещесерце у пластикову пробірку з дозованим вакуумом 10 мл венозної крові. Пробірку з кров'ю витримували у термостаті при 37°C впродовж 30 хв. Сироватку відділяли від згустка центрифугуванням впродовж 10 хв при 3000 г. Зберігали сироватку при +4°C впродовж 48 год без додавання консервантів [10].

*Методика пробопідготовки сироватки крові для спектрофотометричного визначення СТЗ за продуктами його взаємодії з АР*

Пробопідготовку виконували в режимі температур (0-5)°C.

У центрифужну пробірку місткістю 2 мл вносили 1,0 мл сироватки крові, до неї додавали 0,050 мл 70 % перхлоратної кислоти, перемішували 1 хв з допомогою завихрювача, після чого центрифугували впродовж 5 хв при 12000 г. Аліквоту надосадової рідини об'ємом 0,850 мл, одержаної після першого центрифугування, переносили у мірну колбу місткістю 25 мл. До осаду додавали 0,800 мл води та 0,050 мл 70 % розчину перхлоратної кислоти, перемішували з допомогою завихрювача до одержання гомогенної суспензії, після чого знову центрифугували впродовж 5 хв при 12000 г. Надосадову рідину, одержану після другого центрифугування, кількісно переносили до тієї ж мірної колби з надосадовою рідиною, одержаною після першого центрифугування, та використовували для спектрофотометричного визначення вмісту СТЗ за продуктами його взаємодії з АР.

*Методика визначення СТЗ за продуктами його взаємодії з АР*

Визначення СТЗ виконували за звичайних умов.

У мірну колбу місткістю 25 мл послідовно вносили 5,0 мл 1М розчину хлоридної кислоти, аліквоту досліджуваного розчину з вмістом СА в межах  $1,5 - 3,0 \cdot 10^{-5}$  М (кінцева концентрація), додавали 0,5 мл  $1,25 \cdot 10^{-2}$  М розчину натрій нітриту при визначанні СТЗ з ТрО або 0,8 мл  $1,25 \cdot 10^{-2}$  М розчину натрій нітриту при визначанні СТЗ з ПАР чи ТАР. Після перемішування суміш витримували впродовж 10 хв у крижаній бані, вносили 0,5 мл  $1,25 \cdot 10^{-3}$  М розчину ТрО або 0,5 мл  $3,0 \cdot 10^{-3}$  М розчину ПАР чи 0,5 мл  $2,25 \cdot 10^{-3}$  М розчину ТАР, вносили 2,5 мл 0,1М розчину натрій тетраборату та підлужнювали розчином натрій гідроксиду до рН = 10,5 при визначанні СТЗ з ТрО або до рН = 11,0 при визначанні СТЗ з ПАР чи рН = 9,5

при визначанні СТЗ з ТАР. Вимірювання інтенсивності світлопоглинання розчину досліджуваного зразка відносно компенсаційного розчину (розчин, що містить усі реагенти, за винятком аналіту, та пройшов усі стадії реакції) проводили при  $\lambda = 595$  нм,  $l = 1$  см [6, 7].

*Методика пробопідготовки сироватки крові для визначення СТЗ методом ВЕРХ*

Пробопідготовку, за винятком фільтрування надосадової рідини крізь мікрофільтр, виконували в режимі температур (0-5)°C.

У центрифужну пробірку об'ємом 2 мл вносили 1,0 мл сироватки крові, додавали 0,050 мл 70 % перхлоратної кислоти та ретельно перемішували 1 хв, після чого центрифугували впродовж 5 хв при 12000 г. Аліквоту надосадової рідини об'ємом 0,850 мл переносили у іншу центрифужну пробірку місткістю 2,0 мл. До осаду додавали 0,400 мл води та 0,050 мл 70 % розчину перхлоратної кислоти, перемішували з допомогою завихрювача до одержання гомогенної суспензії, після чого знову центрифугували впродовж 5 хв при 12000 г. Надосадову рідину, одержану після другого центрифугування, кількісно переносили до центрифужної пробірки з надосадовою рідиною, отриманою після першого центрифугування. До отриманого розчину при перемішуванні повільно додавали, порціями по 10–15 мг, сухий калій карбонат загальною масою 80 мг. Осад, що утворюється, осаджували центрифугуванням впродовж 5 хв при 12000 г. Відбирали 1,2 мл надосадової рідини у пробірку об'ємом 5 мл і додавали 3,6 мл мобільної фази. Отриманий розчин фільтрували крізь мікрофільтр з діаметром пор 0,22 мкм та переносили у віалу для подальшого хроматографічного аналізу.

Умови хроматографічного визначення: колонка  $C_{18}$  (250 мм × 4,6 мм,  $d = 0,005$  мм); мобільна фаза – 2 % розчин ацетатної кислоти – ацетонітрил = 55 : 45 (об. / об.); швидкість потоку – 1,0 мл/хв; УФ-детектування – при  $\lambda = 264$  нм; час утримування – 5,40 хв; об'єм внесеного зразка – 20 мкл.

*Методика пробопідготовки модельного розчину (суміші сироватки крові з СТЗ)*

Модельний розчин готували змішуванням водного розчину СТЗ зі сироваткою крові (4,75 мл сироватки і 0,25 мл розчину, що містив 1,54 мг/мл СТЗ). Суміш витримували при кімнатній температурі впродовж 1 год, після чого проводили пробопідготовку двох аліквот – одну аліквоту готували для спектрофотометричного визначення СТЗ з азореагентами, а з іншою аліквотою виконували пробопідготовку для хроматографічного визначення СТЗ, як це описано вище.

**Результати й обговорення.** Для проведення визначань необхідно було осадити білки сироватки, оскільки при внесенні аліквоти сироватки крові до кислого реакційного середовища білки денатурують і утворюють каламуть. Для осадження білків, згідно з літературними даними, використовують різні осаджувачі, серед яких трихлороцтова кислота, ацетонітрил, етилацетат, амоній сульфат, перхлоратна кислота тощо [11, 12]. Нами було перевірено вплив осаджувачів на аналітичний сигнал при визначанні СА з азобарвником ТрО. Результати показали, що органічні осаджувачі переважно негативно впливають на вихід аналітичної форми СА, а максимальний вихід продукту отримується при використанні розчину перхлоратної кислоти з кінцевою її концентрацією при осадженні, рівною 5% (табл. 1).

У процесі пробопідготовки досліджуваного зразка для визначання СТЗ методом ВЕРХ кислоти, якою осаджували білки сироватки крові, необхідно було нейтралізувати, для чого використовували сухий калій карбонат [13, 14] з попередньо розрахованою масою наважки. Були перевірені різні варіанти пробопідготовки для

визначання СТЗ у модельних розчинах, що містили сироватку крові та такий самий доданий вміст цього аналіту, що був використаний при спектрофотометричному визначанні з азобарвником ТрО (табл. 2). Отримані результати засвідчили, що дворазове осадження білків перхлоратною кислотою дозволяє максимально вилучити СТЗ з матриці сироватки. Нейтралізація перхлоратної кислоти калій карбонатом не збільшувала вихід СТЗ з матриці сироватки, проте ця стадія є необхідною у пробопідготовці при хроматографічному визначанні СТЗ, і тому в цьому випадку застосовували дворазове осадження білків сироватки перхлоратною кислотою з наступною нейтралізацією її калій карбонатом.

Використовуючи умови максимального вилучення СТЗ зі сироватки крові, визначали вміст СТЗ у модельних розчинах методом «введено-знайдено», з використанням трьох азореагентів – ТрО, ПАР і ТАР, (табл. 3). У реальному зразку крові хворої людини, яка приймала препарат (табл. 4), СТЗ визначали з використанням лише двох азореагентів – ТрО та ПАР.

**Таблиця 1.** Вплив природи реагента – осаджувача білків сироватки крові, на визначання СТЗ з азобарвником ТрО.  $C_{\text{HCl}} = 0,5 \text{ M}$ ,  $C_{\text{СТЗ}} = 1,5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $C_{\text{NaNO}_2} = 2,5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ,  $C_{\text{ТрО}} = 2,5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $C_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7} = 0,01 \text{ M}$ ,  $\text{pH} = 10,5$ ;  $n = 3$ ,  $P = 0,95$

Реагент для осадження білків (кінцева концентрація в суміші при осадженні білків)	Внесено, $C_{\text{СТЗ}}$ , (мкг/мл)	Знайдено, $\bar{C}_{\text{СТЗ}} \pm \Delta C$ , (%)	$S_r$
Трихлороцтова кислота (5%)	100	71±5	0,028
Перхлоратна кислота (5%)		98±3	0,032
Амоній сульфат (5%)		95±3	0,035
Натрій вольфрамат (0,4%)		85±5	0,036
Етанол (4%)		91±4	0,044
Метанол (4%)		75±3	0,040
Ацетонітрил (4%)		61±5	0,045
Етилацетат (4%)		65±5	0,038

**Таблиця 2.** Визначання СТЗ з ТрО у сироватці крові, підготовленій для аналізу різними способами.  $C_{\text{HCl}} = 0,5 \text{ M}$ ,  $C_{\text{СТЗ}} = 1,5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $C_{\text{NaNO}_2} = 2,5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ,  $C_{\text{ТрО}} = 2,5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $C_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7} = 0,01 \text{ M}$ ,  $\text{pH} = 10,5$ ;  $n = 3$ ,  $P = 0,95$

Операція пробопідготовки	Внесено	Знайдено		$S_r$
	$C_{\text{СТЗ}}$ , мкг/мл	$\bar{C}_{\text{СТЗ}} \pm \Delta C$ , мкг/мл	$\bar{C}_{\text{СТЗ}} \pm \Delta C$ , %	
Одноразове осадження білків перхлоратною кислотою	77	59±1	76±1	0,003
Дворазове осадження білків перхлоратною кислотою		73±2	94±3	0,012
Одноразове осадження білків перхлоратною кислотою з наступною нейтралізацією її калій карбонатом		70±4	91±5	0,023
Дворазове осадження білків перхлоратною кислотою з наступними нейтралізаціями її калій карбонатом		72±2	93±3	0,011

**Таблиця 3.** Визначання СТЗ з АР у модельному розчині сироватки крові методом «введено-знайдено».

$C_{Na_2B_4O_7} = 0,01 \text{ M}$ ,  $n=3$ ,  $P=0,95$ .  
 ТрО:  $C_{HCl} = 0,5 \text{ M}$ ,  $C_{СТЗ} = 1,5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $C_{NaNO_2} = 2,5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ,  $C_{ТрО} = 2,5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $pH = 10,5$ ;  
 ПАР:  $C_{HCl} = 0,5 \text{ M}$ ,  $C_{СТЗ} = 3,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $C_{NaNO_2} = 4,0 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ,  $C_{ПАР} = 6,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $pH = 11,0$ ;  
 ТАР:  $C_{HCl} = 1,0 \text{ M}$ ,  $C_{СТЗ} = 3,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $C_{NaNO_2} = 4,0 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ,  $C_{ТАР} = 4,5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $pH = 9,5$

Методика	Введено	Знайдено		
	$C_{СТЗ}$ , мкг/мл	$\bar{C}_{СТЗ} \pm \Delta C$ , мкг/мл	$\bar{C}_{СТЗ} \pm \Delta C$ , %	$S_r$
СФ, з використанням ТрО	77	73±2	94±3	0,012
СФ, з використанням ПАР		69±3	89±4	0,016
СФ, з використанням ТАР		83±32	107±41	0,154
ВЕРХ, з використанням УФ-детектора		71±1	92±2	0,006

**Таблиця 4.** Визначання СТЗ у сироватці крові лікованого пацієнта

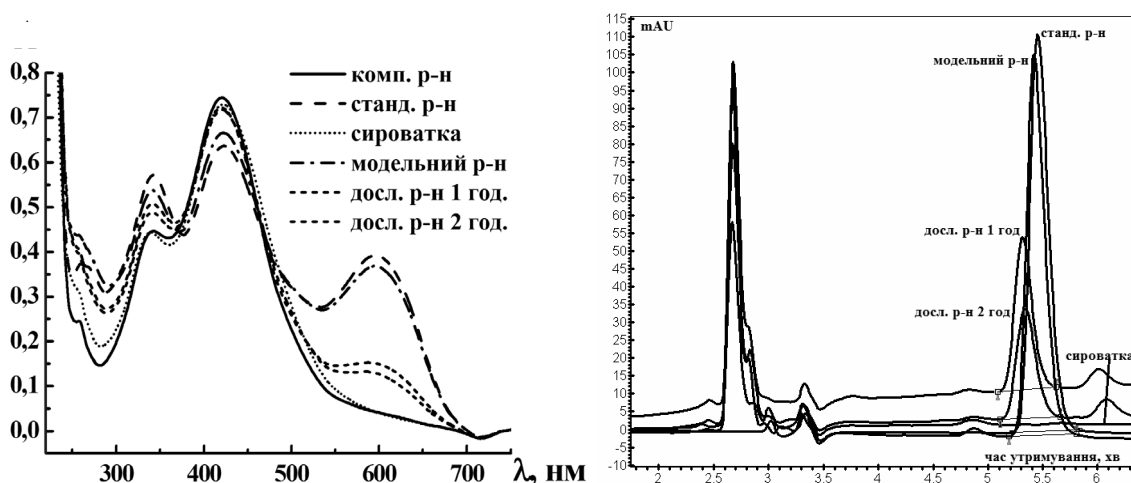
з використанням АР.  $C_{Na_2B_4O_7} = 0,01 \text{ M}$ ,  $n=5$ ,  $P=0,95$ .  
 ТрО:  $C_{HCl} = 0,5 \text{ M}$ ,  $C_{СТЗ} = 1,5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $C_{NaNO_2} = 2,5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ,  $C_{ТрО} = 2,5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $pH = 10,5$ ;  
 ПАР:  $C_{HCl} = 0,5 \text{ M}$ ,  $C_{СТЗ} = 3,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $C_{NaNO_2} = 4,0 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ,  $C_{ПАР} = 6,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $pH = 11,0$

Методика	1 год після введення		2 год після введення	
	$\bar{C}_{СТЗ} \pm \Delta C$ , мкг/мл	$S_r$	$\bar{C}_{СТЗ} \pm \Delta C$ , мкг/мл	$S_r$
СФ, з використанням ТрО	31±2	0,023	24±3	0,055
СФ, з використанням ПАР	31±5	0,060	22±4	0,063
ВЕРХ, з використанням УФ-детектора	30±2	0,016	24±1	0,007

Наведені в таблиці 3 дані щодо аналізу модельних розчинів свідчать, що результати визначення СТЗ спектрофотометричним методом, з використанням азореагентів ТрО та ПАР, при оптимальних умовах вилучення цього СА зі сироватки крові, підтверджуються результатами його хроматографічного визначання. Спектрофотометричне визначання СТЗ з використанням азореагента ТАР характеризується дуже низь-

кою відтворюваністю (похибка ~40%), що можна пояснити впливом матричних компонентів.

Хроматографічне визначання проводили з використанням УФ-детектора, при цьому на хроматограмі спостерігали чітке розділення піків матриці та аналіту. Цей факт є свідченням того, що на отриманий результат впливала лише ефективність вилучення СТЗ зі сироватки крові. Вилучення СА з допомогою ацетонітрилу сягає



**Рис. 1.** Електронні спектри поглинання розчинів ТрО та продуктів його взаємодії з діазосіллю СТЗ та хроматограми розчинів СТЗ при визначанні його вмісту у сироватці крові.  $C_{HCl} = 0,5 \text{ M}$ ,  $C_{СТЗ} = 1,5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $C_{NaNO_2} = 2,5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ ,  $C_{ТрО} = 2,5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ,  $C_{Na_2B_4O_7} = 0,01 \text{ M}$ ,  $pH = 10,5$ .

~85 % [3, 4], а застосування етилацетату дозволяє вилучати СА зі сироватки крові на рівні усього ~75 % [5]. І лише запропонований спосіб пробопідготовки зразка з дворазовим осадженням білків перхлоратною кислотою дозволяє вилучати понад 90 % СТЗ, що значно підвищує ефективність визначання СА у сироватці крові.

Оскільки СТЗ є лікарським засобом короткотривалої дії і максимальна його концентрація в крові досягається через 1 – 2 год, зразки крові лікованого пацієнта відбирали через одну та дві години з моменту першого прийому лікарського засобу. Визначання проводили методом порівняння аналітичного сигналу досліджуваного розчину зі сигналом розчину лікарської речовини СТЗ, що пройшов всі стадії пробопідготовки сироватки крові. На рисунку 1 наведено електронні спектри світлопоглинання, отримані відносно води та хроматограми, отримані при визначанні СТЗ у зразках сироватки крові.

Отримані результати спектрофотометричного визначання СТЗ з використанням ТрО та ПАР у

сироватці крові, відібраної через одну та дві години після прийому ліків, теж підтверджуються результатами хроматографічного визначання. Як свідчать дані, наведені у таблиці 4, впродовж другої години після вживання лікарського засобу, вміст СА у крові зменшується на 25 % порівняно з першою годиною.

**Висновки.** 1. Підібрано оптимальні умови для осадження білків при визначанні СТЗ в сироватці крові людини спектрофотометричним методом та методом ВЕРХ.

2. Розроблено методики спектрофотометричного визначання СТЗ з використанням азореагентів ТрО та ПАР в депротейнізованій сироватці крові людини.

3. Показано, що розроблені методики спектрофотометричного визначання СТЗ з використанням азореагентів ТрО та ПАР, але не з ТАР, дозволяють визначати вміст цього СА в крові людини, при цьому характеризуються достатньою чутливістю та селективністю, а за експресністю значно переважають хроматографічне визначання.

## Література

1. Химия белка. Часть 2. Избранные разделы частной химии белка / [Ашмарин И. П., Садикова Н. В., Тукачинский С. Е., Мюльберг А. А.]. – Ленинград : Изд. ЛГУ, 1971. – 112 с.
2. Фармакологія. Підручник для студентів медичних факультетів [Чекман І. С., Горчакова Н. О., Казак Л. І. та ін.] – [2-ге вид.]. – Вінниця : Нова Книга, 2011. – 784 с.
3. Determination of sulfadimethoxine residues in skunk serum by HPLC / T. M. Primus, S. M. Jojola, S. J. Robinson [et al.] // J. Liq. Chromatogr. R T.– 2007. – Vol. 30. – P. 2095–2102.
4. Соколова Л. И. Определение некоторых сульфаниламидных препаратов в биологических жидкостях и тканях при их совместном присутствии в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ / Л. И. Соколова, А. П. Черняев // Хим.-фарм журнал. – 2005. – Т. 39. – № 6. – С. 52–54.
5. Gochin R. Simultaneous determination of trimethoprim, sulfamethoxazole and N<sup>4</sup>-acetylsulfamethoxazole in serum and urine by high-performance liquid chromatography / R. Gochin, I. Kanfer, J. M. Haigh // J. Chrom. – 1981. – Vol. 223. – P. 139–145.
6. Application of sulphanilamides disazo dyes with Tropaeolin O for simple, rapid and sensitive spectrophotometric assay of medicines / M. Boiko, T. Vrublevska, O. Korkuna [et al.] // Spectrochim. Acta A. – 2011. – Vol. 79A. – No. 2. – P. 325–331.
7. Спектрофотометричне визначання сульфаниламідів

у лікарських формах із використанням тропеоліну О / М. Бойко, Т. Врублевська, О. Коркуна [та ін.] // Вісн. Львів. ун-ту. Серія Хім. – 2011. – Вип. 52. – С. 174–183.

8. Спектрофотометрическое определение производных сульфаниламида с использованием 4-(2-пиридилазо) резорцина / М. Бойко, Т. Врублевская, О. Коркуна [и др.] // Вопросы химии и химтехнологии. – 2012. – № 2. – С. 116–126.

9. Стоколоса Л. Я. 4-(2-тіазолілазо) резорцин – новий реагент для визначення сульфаниламідів в різних лікарських формах / Л. Я. Стоколоса, І. М. Костюк, М. Я. Бойко // Тринадцята Всеукраїнська конференція студентів та аспірантів “Сучасні проблеми хімії”, 25-27 квітня 2012 р.: матер. конф. – Київ, 2012. – С. 171.

10. Горячковский А. М. Клиническая биохимия / А. М. Горячковский. – Одесса : Астропринт, 1998. – 645 с.

11. Основы биохимии: В 3-х томах. – Т. 1. / [Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э. и др.]; пер. с англ. Л. М. Гиномана; под ред. Ю. А. Овчинникова. – М. : Мир, 1981. – 726 с.

12. Справочник биохимика: пер. с англ. / [Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К.] – М. : Мир, 1991. – 544 с.

13. Способ определения средних молекул / В. В. Николаичик, В. М. Моин, В. В. Кирковский [и др.] // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 13–18.

14. Осипович В. К. Сравнительная оценка экспресс-методов определения средних молекул / В. К. Осипович, З. А. Тупикова, И.М. Маркелов // Лаб. дело. – 1987. – № 3. – С. 221–224.

## СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУЛЬФАТИАЗОЛА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЗОРЕАГЕНТОВ

М. Я. Бойко<sup>1,2</sup>, И. Я. Коцюмбас<sup>1</sup>, С. М. Меликьян<sup>1</sup>, О. Я. Коркуна<sup>2</sup>, Т. Я. Врублевская<sup>2</sup>, Г. Ю. Тесляр<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок, Львов

<sup>2</sup>Львовский национальный университет имени Ивана Франко

**Резюме:** разработана методика спектрофотометрического определения содержания сульфатиазола с использованием моноазокрасителя тропеолина О и гетероциклического азосоединения 4-(2-пиридилазо) резорцина в сыворотке крови при антибактериальной терапии больных. Пробоподготовка образца предусматривает удаление белков из реакционной смеси осаждением перхлоратной кислотой. Аналитическая реакция основывается на образовании окрашенного продукта взаимодействия диазосоли сульфатиазола с азореагентами. Полученные результаты спектрофотометрического определения сульфатиазола с азореагентами подтверждаются результатами, полученными методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

**Ключевые слова:** спектрофотометрия, высокоэффективная жидкостная хроматография, сыворотка крови, сульфатиазол, тропеолин О, 4-(2-пиридилазо) резорцин, 4-(2-тиазолилазо) резорцин.

## SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF SULPHATHIAZOLE IN HUMAN BLOOD SERUM USING AZOREAGENTS

М. Ya. Boiko<sup>1,2</sup>, I. Ya. Kotsiumbas<sup>1</sup>, O. Ya. Korkuna<sup>2</sup>, S. M. Melikyan<sup>1</sup>, T. Ya. Vrublevska<sup>2</sup>, H. Yu. Teslyar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>State Scientific and Research Control Institute of Veterinary Medicine Products and Feed Additives, Lviv

<sup>2</sup>Lviv National University by Ivan Franko

**Summary:** the method of spectrophotometric determination of content sulphathiazole using monoazo dye tropaeoline O and heterocyclic azo compound 4-(2-pyridylazo)-resorcinol in the blood serum of patients with antibacterial therapy has been elaborated. Sample preparation involves removing of protein from the reaction mixture by precipitation with perchloric acid. An analytical reaction is based on formation of the colored reaction product of diazosalt sulphathiazole with azo reagents. The results obtained with the spectrophotometric determination sulphathiazole with azo reagents conform to the results by high performance liquid chromatography.

**Key words:** spectrophotometry, high performance liquid chromatography, blood serum, sulphathiazole, tropaeoline O, 4-(2-pyridylazo) resorcinol, 4-(2-thiazolylazo) resorcinol.

Отримано 18.08.14