

## АНОТАЦІЯ

Костів О.І. Реакція азосполучення в аналізі  $\beta$ -лактамних та тетрациклінових антибіотиків. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії у галузі 10 – Природничі науки за спеціальністю 102 – Хімія. Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, 2021.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню спектрофотометричних (СФ) та вольтамперометричних (ВА) властивостей азосполук  $\beta$ -лактамних та тетрациклінових антибіотиків, отриманих на основі реакції азосполучення: амоксициліну (АМ) та окситетрацикліну (ОТЦ) з діазотованими реагентами, які містять в своїй структурі первинну ароматичну аміногрупу; діазотованих цефалоспоринів з фенольними реагентами з метою розробки методик їхнього визначення. У роботі вивчено можливості використання отриманих азосполук для кількісного визначення АМ, цефтазидиму (ЦЕФТ), цефтріаксону (ЦЕФТР) та ОТЦ.

*Наукова новизна одержаних результатів.* У результаті дослідження хіміко-аналітичних властивостей антибіотиків (АН) вперше запропоновано використання реакції азосполучення АМ з діазотованим сульфатіазолом (СТЗ) та сульфаніламідом (САМ), ОТЦ з 1-діазо-2-нафтол-4-сульфо кислотою (ДНСК) та діазотованим фуксином (Фукс), діазотованого ЦЕФТ з резорцином (Рез), 8-оксихіноліном (8-Окс), 2-метилфенолом (2-Мет) та діазотованого ЦЕФТР з 8-Окс і 2-Мет для розробки методик СФ визначення АН в одно- та багатокомпонентних лікарських засобах. Вперше вивчено оптимальні умови діазотування реагентів (САМ, СТЗ та Фукс) для подальшого азосполучення з АМ та ОЦТ відповідно та цефалоспоринових антибіотиків (ЦЕФТ та ЦЕФТР) для подальшої взаємодії з 8-Окс, 2-Мет і Рез, зокрема: природу та концентрацію кислоти як середовища діазотування, надлишок діазотуючого реагенту натрій нітриту та тривалість діазотування. Вперше вивчено оптимальні умови азосполучення ДНСК, діазосолей Фукс, САМ та СТЗ з АН, та діазосолей цефалоспоринових антибіотиків (ЦА) із фенольними реагентами, зокрема, кислотність середовища взаємодії, надлишок реагенту, вплив сторонніх електролітів для отримання максимального аналітичного сигналу, що в свою чергу,

дало змогу одержати ефективні кольорові аналітичні форми антибіотиків з реагентами, розрахувати для них  $\bar{\epsilon}_\lambda$  та розробити методики кількісного визначення цих АН. Встановлено достатньо високу селективність аналітичних реакцій АН з реагентами за наявності біологічно активних (клавуланової кислоти) та допоміжних речовин, що дало змогу розробити СФ методики визначення АН у одно- та багатокомпонентних готових лікарських формах. Вперше досліджено електрохімічну поведінку АМ та продукту його азосполучення з діазотованим САМ і запропоновано схему електродного процесу відновлення утвореної азосполуки та розроблено і валідовано ВА методику визначення АМ у лікарських засобах. Вперше вивчено електрохімічну поведінку продукту власного азосполучення діазотованого цефтріаксону та показано можливість його використання для ВА визначення ЦЕФТР.

*Практичне значення одержаних результатів.* На підставі проведених експериментальних досліджень розроблено прості, селективні спектрофотометричні методики визначення АМ з діазотованими сульфаніламидами (СА), ОТЦ з діазотованим Фукс та ДНСК, а також ЦЕФТР за допомогою 8-Окс та 2-Мет і ЦЕФТ з використанням Рез, 8-Окс та 2-Мет, що переважають відомі аналоги за еспресністю (10–40 хв) та співмірні за чутливістю з найчутливішими методиками СФ визначення цих біологічно активних речовин. Також розроблені чутливі ВА методики визначення АМ за реакцією азосполучення із діазотованим САМ та ЦЕФТР за продуктом власного азосполучення.

Розроблені методики успішно апробовано під час аналізу одно- та багатокомпонентних лікарських форм (таблеток, пероральних та ін'єкційних порошків та суспензій). Результати аналізу порівнювали з результатами наведеними у сертифікатах якості відповідних препаратів. Окремі методики було валідовано згідно вимог Державної фармакопеї України (ДФУ), зокрема СФ методики визначення амоксициліну з САМ і СТЗ, цефтріаксону з 8-Окс та ВА методику визначення амоксициліну із САМ. Новизна та оригінальність розробленої ВА методики визначення АМ з сульфаніламідом підтверджена патентом України на винахід "Спосіб вольтамперометричного визначення амоксициліну у

фармацевтичних препаратах”. Окремі матеріали дисертаційної роботи впроваджено у практику аналітичних лабораторій. Розроблену методику СФ визначення АМ у таблетках “Амоксиклав квіктаб” за реакцією азосполучення із діазотованим САМ впроваджено у лабораторний практикум дисципліни “Аналіз лікарських засобів” для студентів освітнього рівня “магістр” хімічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка. Методики спектрофотометричного визначення ОТЦ за реакцією азосполучення із діазотованим Фукс та ДНСК впроваджено у практику лабораторії вискоефективної рідинної хроматографії ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів.

У вступі обґрунтовано актуальність теми дисертації, визначено мету і задачі роботи, сформульовано об’єкт та предмет дослідження, зазначено наукову новизну та практичне значення одержаних результатів.

У першому розділі проведено огляд літературних даних стосовно фізичних, хімічних та лікувальних властивостей АН, розглянуто основні методи кількісного визначення АМ, ОТЦ, ЦЕФТР, ЦЕФТ та детально проаналізовано відомі СФ та ВА методики. Також проаналізовано фізичні та хіміко-аналітичні характеристики реагентів: САМ, СТЗ, ДНСК, Фукс, Рез, 2-Мет та 8-Окс. Обґрунтовано переваги використання спектрофотометрії та вольтамперометрії для визначення АН.

У другому розділі описано методики виконання експериментальних досліджень, приготування та стандартизації вихідних та робочих розчинів, охарактеризовано обладнання, яке використовували в роботі.

У третьому розділі дисертаційної роботи обґрунтовано та експериментально доведено можливість застосування реакції азосполучення в аналізі  $\beta$ -лактамних (АМ, ЦЕФТ та ЦЕФТР) та тетрациклінових (ОТЦ) антибіотиків з метою отримання аналітичних форм для їх спектрофотометричного визначення.

Встановлено оптимальні умови проведення реакцій діазотування реагентів САМ, СТЗ та Фукс: природу та концентрацію кислоти – 0,6–1,0 М хлоридна кислота, концентрацію діазотуючого реагенту – 15-кратний надлишок натрій нітриту відносно концентрації САМ та СТЗ; 10-кратний надлишок відносно концентрації Фукс; тривалість реакції діазотування – 10–20 хв. Досліджено умови максимального

виходу забарвлених азосполук діазосолей реагентів з досліджуваними антибіотиками АМ та ОТЦ: кислотність середовища для азосполук САМ–АМ, СТЗ–АМ, Фукс–ОТЦ – рН 10,5, ДНСК–ОТЦ – середовище 10,0 М NaOH; надлишок реагенту для отримання азосполук САМ–АМ та СТЗ–АМ – 5-кратний, ДНСК–ОТЦ – 2,5-кратний, для азосполуки Фукс–ОТЦ – 1,33-кратний надлишок ОТЦ стосовно Фукс. Вивчено стійкість утворених азосполук сполук АМ–САМ (СТЗ) – 10 хв; ОТЦ–Фукс – 3 год, ОТЦ–ДНСК – 10 хв.

Вивчено оптимальні умови діазотування цефалоспоринових антибіотиків ЦЕФТ та ЦЕФТР: концентрація хлоридної кислоти – 12,0 М; концентрація діазотуючого реагенту – 10-кратний надлишок відносно концентрації АН. Досліджено умови максимального виходу забарвлених сполук діазосолей ЦА з реагентами: лужне середовище з кінцевою концентрацією NaOH 0,16 М; надлишок реагенту – 7-кратний для взаємодії ЦА з 8-Окс; 10-кратний у випадку азосполучення ЦА з 2-Мет та ЦЕФТ з Рез. Вивчено стійкість утворених азосполук ЦЕФТ–8-Окс (Рез, 2-Мет) та ЦЕФТР–8-Окс (2-Мет) – 1 год.

Четвертий розділ містить описи нових розроблених методик СФ визначення АМ, ОТЦ, ЦЕФТ, ЦЕФТР та їхні метрологічні характеристики. Найменша межа виявлення характерна для методик визначення: АМ з СТЗ,  $C_{\min} = 6,0 \cdot 10^{-7}$  М; ОТЦ з фуксином,  $C_{\min} = 3,17 \cdot 10^{-6}$  М; ЦЕФТ з 2-Мет,  $C_{\min} = 5,7 \cdot 10^{-7}$  М; ЦЕФТР з 2-Мет,  $C_{\min} = 4,3 \cdot 10^{-7}$  М. Запропоновані методики чутливі, селективні, доволі експресні, час проведення аналізу (10–30 хв). Усі розроблені СФ методики визначення АН успішно апробовані на модельних розчинах методом “уведено-знайдено”, а методику визначення АМ із САМ під час аналізу водопровідної води.

На підставі одержаних результатів розроблено методики СФ визначення АМ за реакцією азосполучення із діазотованими сульфаніламидами у таблетках “Амоксил” та “Амоксиклав Квіктаб”, порошку для приготування оральної суспензії “Оспамокс”, суспензії для ін’єкцій “Амоксицилін 15% Л.А.”; методики фотометричного визначення ОТЦ за реакцією азосполучення із діазотованим фуксином та 1-діазо-2-нафтол-4-сульфо кислотою у порошках для перорального застосування “Окситетрациклін НСІ”, “Бровасептол” та розчині для ін’єкцій “Окси-

100”); методики фотометричного визначення ЦЕФТР за реакцією азосполучення із 8-Окс та 2-Мет в порошках для приготування ін’єкційних розчинів “Цефтриаксон” і “ЕМСЕФ 1000” та ЦЕФТ за реакцією азосполучення із 8-оксихіноліном, резорцином та 2-метилфенолом – “Цефтазидим” та “Денізид”. Методики визначення АМ з САМ, СТЗ та ЦЕФТР з 8-Окс валідовано згідно вимог ДФУ.

У п’ятому розділі висвітлено можливість застосування азосполуки АМ з сіллю арендізонію САМ, а також азоіміносполуки на основі ЦЕФТР для розробки методик ВА визначення АМ та ЦЕФТР. Вивчено, що азоіміносполука ЦЕФТР відновлюється за  $E_{\text{к}}^{\text{п1}} = -0,64 \text{ В}$ , а азосполука АМ–САМ за  $E_{\text{к}}^{\text{п2}} = -0,55$ . На основі проведених досліджень розроблено нові вольтамперометричні методики визначення АМ та ЦЕФТР та розраховано їх метрологічні характеристики, зокрема, для АМ,  $C_{\text{min}} = 2,4 \cdot 10^{-7} \text{ М}$ , а для ЦЕФТР,  $C_{\text{min}} = 2,3 \cdot 10^{-6} \text{ М}$ . Методику ВА визначення АМ за реакцією азосполучення із САМ успішно апробовано та валідовано під час аналізу таблеток “Амоксил” та порошку для приготування оральної суспензії “Оспамокс”. Також розроблено методику ВА визначення ЦЕФТР за реакцією власного азосполучення та успішно апробовано під час аналізу порошку для приготування ін’єкційного розчину “Цефтриаксон”.

Ключові слова: Спектрофотометрія, циклічна вольтамперометрія, полярографія, валідація, антибіотики, цефтріаксон, цефтазидим, амоксицилін, окситетрациклін, діазотування, солі (арен)діазонію, азосполучення, первинні ароматичні аміни, фенольні сполуки, лікарські препарати.

**Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

1. **Костів О.** Вольтамперометричне визначення цефтріаксону за реакцією азосполучення / **О. Костів, П. Ридчук, О. Коркуна** // Вісн. Львів. ун-ту. Серія хім. – 2019. – Вип. 60., Ч.1 – С. 200–209.

2. **Kostiv O.** Development and validation of the simple and sensitive spectrophotometric method of amoxicillin determination in tablets using sulphanilamides / **O. Kostiv, O. Korkuna, P. Rydchuk** // Acta Chim. Slov. – 2020, Vol. 67, No. 1. – P. 23–35.

3. Патент України на винахід № 120717. МПК G01N 27/00 (2020). Спосіб вольтамперометричного визначення амоксициліну у фармацевтичних препаратах / О.Я. Коркуна, П.В. Ридчук, **О.І. Костів**. – №а201801406. – заявл. 13.02.2018; опубл. 27.01.2020, Бюл. № 2. Заявник і власник – Львівський національний університет імені Івана Франка.

4. **Костів О.І.** Реакція азосполучення цефалоспоринових антибіотиків з 8-оксихіноліном та її застосування в аналізі лікарських засобів / **О. Костів**, О. Коркуна, М. Орнат // *Methods Objects Chem. Anal.* – 2020. – Vol. 15, No. 3. – P. 144–155.

5. **Костів О.І.** Спектрофотометричне визначення цефтазидиму у ліках із застосуванням резорцину та 2-метилфенолу / **О.І. Костів**, О.Я. Коркуна, М.В. Шерedyкo // *Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii.* – 2021. – No. 1, – P. 35–44.

6. **Костів О.** Застосування азосполуки окситетрацикліну з 1-аміно-2-нафтол-4-сульфо кислотою для спектрофотометричного аналізу ветеринарних препаратів / **О. Костів**, О. Коркуна, Л. Янчук, М. Смолінська // *Вісн. Львів. ун-ту. Серія хім.* – 2021. – Вип. 62. – С. – 156–167.

#### **Наукові праці, які засвідчують апробацію результатів дисертації:**

1. **Костів О.І.**, Коркуна О.Я. Застосування реакції азосполучення для спектрофотометричного визначення амоксициліну // Тези допов. Київської конф. з аналітичної хімії “Сучасні тенденції 2016”, 18–22 жовтня 2016, Київ. – С. 130–131.

2. **Костів О.І.**, Коркуна О.Я. Оптимальні умови взаємодії амоксициліну з деякими реагентами, що містять у своїй структурі первинну ароматичну аміногрупу // *Хімічні проблеми сьогодення (ХПС-2017): зб. тез допов. десятої Української наук. конф. студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю / Донецьк. нац. ун.-т ім. В. Стуса, 27–29 березня 2017, Вінниця, ТОВ “Нілан-ЛТД”, 2017. – С.19.*

3. **Костів О.І.**, Коркуна О.Я. Нові спектрофотометричні методики визначення амоксициліну з діазотованими реагентами: сульфаніловою кислотою, стрептоцидом, сульфатіазолом та бензидином // *Зб. наук. праць XVI наук. конф. “Львівські хімічні читання – 2017”, 28 травня – 31 травня 2017, Львів. – С. У10.*

4. **Костів О.І.**, Коркуна О.Я. Спектрофотометричне визначення амоксициліну у лікарських препаратах із застосуванням реакції азосполучення // Тези допов. Київської конф. з аналітичної хімії “Сучасні тенденції 2017” / Київ. нац. ун-т ім. Т. Шевченка, 18–21 жовтня 2017, Київ. – С. 168–169.

5. **Костів О.І.**, Коркуна О.Я., Грийцаровська І.А. Використання сульфаніламідів та сульфатіазолу для визначення вмісту амоксициліну у лікарських формах та валідація розроблених методик // Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій: тези допов. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народж. д. фарм. н., проф. О. М. Гайдукевича, 12–13 квітня 2018, Харків: НФаУ. – С. 333

6. **Костів О.І.**, Шерedyкo М.В., Максимів І.Р., Коркуна О.Я. Встановлення оптимальних умов діазотування цефтазидиму та подальшого його азосполучення з фенольними реагентами // Хімічні проблеми сьогодення (ХПС-2019): зб. тез допов. XII Української наук. конф. студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю / Донецьк. нац. ун.-т ім. В. Стуса, 19–21 березня 2019, Вінниця, ТОВ “Нілан-ЛТД”, 2019. – С.12.

7. **Костів О.І.**, Коркуна О.Я., Ридчук П.В., Хавчук М.М. Застосування реакції азосполучення для вольтамперометричного визначення амоксициліну // Зб. наук. праць XVII Наук. конф. “Львівські хімічні читання – 2019”, 2–5 червня 2019, Львів. – С. У43.

8. **Костів О.І.**, Орнат М.П., Коркуна О.Я., Скробала В.Е. Спектрофотометричне визначення цефтріаксону в лікарських засобах за допомогою 8-оксихіноліну // Зб. тез Всеукр. наук.-практич. конф. з міжнар. участю “Сучасні питання молекулярно-біохімічних досліджень та лабораторного скринінгу у клінічній та експериментальній медицині – 2020”, 5–6 березня 2020, Запоріжжя. – С. 16.

9. **Костів О.І.**, Грийцаровська І.А., Коркуна О.Я., Хавчук М.М. Валідація спектрофотометричної методики визначення амоксициліну на основі реакції азосполучення у суспензії для ін’єкцій “Амоксицилін 15% L.A” // Тези доп. XXI

міжнар. конф. студентів, аспірантів та молодих вчених “Сучасні проблеми хімії”/ Київ. нац. ун-т ім. Т. Шевченка, 20–22 травня 2020, Київ. – С. 24.

10. **Костів О.І.**, Коркуна О.Я., Янчук Л.В., Спектрофотометричне визначення окситетрацикліну за реакцією азосполучення з фуксином та 1-діазо-2-нафтол-4-сульфо кислотою // Зб. тез допов. Київської конф. з аналітичної хімії “Сучасні тенденції 2020”, 21–23 жовтня, Наукове видання, Київ: “LAT&K”, 2020. – С. 24.

11. **Костів О.І.**, Коркуна О.Я., Ридчук П.В., Хавчук М.М. Валідація вольтамперометричної методики визначення амоксициліну // Сьомий наук. семін. студентів, аспірантів і молодих учених “Прикладні аспекти електрохімічного аналізу”, 15–16 жовтня 2020, Львів: Малий видавн. центр хім. та фізичн. факульт. ЛНУ ім. І. Франка, 2020. – С. 21.

12. **Костів О.І.**, Коркуна О.Я., Орнат М.П. Валідація спектрофотометричної методики визначення цефтріаксону за допомогою 8-оксихіноліну у порошок для приготування розчинів для ін’єкцій “цефтріаксон” // XIII Всеукр. наук. конф. студентів та аспірантів “Хімічні Каразінські читання – 2021”, 20–21 квітня, Харків, 2021. – С. 38–39.

13. **Костів О.І.**, Коркуна О.Я., Орнат М.П., Футрик А.Н. Азосполука цефтріаксону з 2-метилфенолом, як дериват для спектрофотометричного визначення антибіотика у ліках // V Всеукр. наук. конф. “Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи”. Зб. матеріалів конф., 15 квітня 2021, Житомир, 2021. – С. 25.

14. **Костів О.І.**, Коркуна О.Я. Реакція азосполучення в аналізі  $\beta$ -лактамних та тетрациклінових антибіотиків // Зб. наук. праць: XVIII Наук. конф. “Львівські хімічні читання – 2021”, 31 травня – 2 червня, Львів: Видавництво від А до Я, 2021. – С. У19.



## SUMMARY

*Kostiv O.I.* Azo coupling reaction in the analysis of  $\beta$ -lactam and tetracycline antibiotics. – Manuscript.

Thesis for obtaining a scientific degree of the Doctor of Philosophy in specialty 102 Chemistry, field of studies 10 Natural Science. – Ivan Franko National University of Lviv. – Ivan Franko National University of Lviv, Lviv, 2021.

The thesis is devoted to the research of spectrophotometric (SPh) and voltammetric (VA) properties of azo compounds obtained from  $\beta$ -lactam and tetracycline antibiotics. To develop the methods of investigated antibiotics determination two different ways of azo coupling reaction were used: between amoxicillin, oxytetracycline and diazotized reagents containing in their structure a primary aromatic amino group, as well as between diazotized cephalosporins and phenolic reagents. The possibilities of using the obtained azo compounds for quantitation of amoxicillin (AM), ceftazidime (CEFT), ceftriaxone (CEFTR) and oxytetracycline (OTC) were studied.

*Scientific novelty of the obtained results.* Relies on the research of chemical and analytical properties of antibiotics (AN) such azo coupling reactions were used for the first time: amoxicillin with diazotized sulphathiazole (STZ) or with sulphanilamide (SAM); oxytetracycline with 1-diazo-2-naphthol-4-sulfonic acid (DNSA) or with diazotized fuchsine (Fuchs); diazotized ceftazidime with resorcinol (Res), or with 8-oxyquinoline (8-Ox), or with 2-methylphenol (2-Meth); diazotized ceftriaxone with 8-Ox or with 2-Met. All reactions were used for the development of methods for SPh determination of antibiotics in single- and multicomponent drugs. For the first time, the optimal conditions for diazotization of reagents (SAM, STZ and Fuchs) for further azo coupling with AM and OCT, and for diazotization of cephalosporin antibiotics (CEFT and CEFTR) for further interaction with 8-Ox, 2-Meth, Res were investigated. Among them were acid nature and concentration (as diazotizing medium), excess of the diazotizing reagent (sodium nitrite) and duration of diazotizing. For the first time, the optimal conditions for azo coupling of DNSA, Fuchs, SAM and STZ diazo salts with AN, and cephalosporin antibiotic (CA) diazo salts with phenolic reagents were studied,

in particular, acidity of the interaction medium, reagent excess, influence of foreign electrolytes to obtain the maximum analytical signal. That allowed to obtain effective color analytical forms of antibiotics with reagents, calculate  $\bar{\epsilon}_\lambda$  for them and develop methods for quantitation of these AN. A sufficiently high selectivity of analytical reactions of AN with reagents in the presence of biologically active (clavulanic acid) and auxiliary substances was established, which allowed to develop methods for determination of antibiotics in one- and multicomponent finished dosage forms. For the first time, the electrochemical behavior of AM and the product of its azo coupling with diazotized SAM was investigated and the scheme of electrode process of reduction of the formed azo compound was offered, the VA method of determination of AM in drugs was developed and validated. For the first time the electrochemical behavior of the product of diazotized ceftriaxone own azo coupling was investigated and the possibility of its use for VA determination of CEFTR was shown.

*The practical significance of the obtained results.* Based on the carried out experimental studies, simple, selective spectrophotometric methods for the determination of the AM with diazotized sulphonamides, OTC with diazotized fuchsine and with DNSA, as well as CEFTR using 8-Ox, 2-Met and CEFT using Res, 8-Ox, 2-Met respectively were developed. These methods prevail over the known analogues in rapidity (10–40 min) and are comparable in sensitivity with the most sensitive methods of spectrophotometric determination of these biologically active substances. Sensitive voltammetric methods for the quantitation of AM by the reaction of azo coupling with diazotized SAM and CEFTR by the product of its own azo coupling have also been developed.

The developed methods have been successfully tested during the analysis of single-component and multicomponent dosage forms (tablets, oral and injectable powders and suspensions). The results of the analysis were compared with the results given in the quality certificates of the respective drugs. Some methods were validated according to the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPhU), in particular the SPh method of determination of amoxicillin with SAM and STZ and ceftriaxone with 8-Ox and VA method of determination of amoxicillin with SAM. The

novelty and originality of the developed VA method for the determination of AM with sulphanylamine was confirmed by the patent of Ukraine for the invention “Method of voltammetric determination of amoxicillin in pharmaceuticals”. Some materials of the thesis were introduced into the practice of analytical laboratories. The developed method of SPh determination of AM in tablets “Amoksiklav Quicktab” by the reaction of azo coupling with diazotized SAM was introduced into the laboratory workshop of the discipline “Analysis of drugs” for students of educational level “Master” of the Faculty of Chemistry of Ivan Franko National University of Lviv. Methods of spectrophotometric determination of OTC by the reaction of azo coupling with diazotized Fuchs and with DNSA have been introduced into the practice of the laboratory of high-performance liquid chromatography State Research Control Institute of veterinary medicinal products and feed additives (SCIVP), Lviv.

The introduction substantiate the relevance of the thesis topic, defines the purpose and tasks of the work, formulates the object and subject of research, indicates the scientific novelty and practical significance of the obtained results.

The first section reviews the literature on the physical, chemical and therapeutic properties of AN, considers the main methods of quantitation of AM, OTC, CEFT, CEFTR and discusses in detail already known SPh and VA methods. Physical and analytical characteristics of reagents: SAM, STZ, DNSA, Fuchs, Res, 2-Meth and 8-Ox were also analyzed. The advantages of using spectrophotometry and voltammetry to determine AN were substantiated.

The second section describes the methods of experimental research, preparation and standardization of initial and working solutions, describes the equipment used during the work.

The third section substantiates and experimentally proves the possibility of using the azo coupling reaction in the analysis of  $\beta$ -lactam (AM, CEFT and CEFTR) and tetracycline (OTC) antibiotics in order to obtain analytical forms for their spectrophotometric determination.

The optimal conditions for carrying out the diazotization reactions of reagents SAM, STZ, Fuchs were established: 0.6-1.0 M hydrochloric acid; 15-fold excess of

sodium nitrite relative to the concentration of SAM and STZ; 10-fold excess of sodium nitrite relative to the concentration of fuchsine; the duration of the diazotization reaction is 10–20 minutes. The conditions of maximum yield of colored azo compounds of diazo salts of reagents with the antibiotics AM and OTC were studied: pH 10.5 for azo compounds SAM–AM, STZ–AM, Fuchs–OTC; 10.0 M NaOH medium for DNSA–OTC; 5-fold excess of reagent for azo compounds SAM–AM and STZ–AM; 2.5-fold excess for DNSA–OTC; 1.33-fold excess of OTC toward Fuchs for azo compound Fuchs–OTC. Azo compounds AM–SAM, AM–STZ, OTC–DNSA are stable for 10 minutes; OTC–Fuchs – 3 hours.

The optimal conditions for diazotization of cephalosporin antibiotics CEFT and CEFTR were studied: 12.0 M hydrochloric acid; 10-fold excess of sodium nitrite relative to the concentration of AN. The conditions of maximum yield of colored compounds of CA diazo salts with reagents were investigated: reaction medium – 0.16 M NaOH in the final concentration; 7-fold excess of 8-Ox; 10-fold excess of 2-Meth or Res. CEFT azo compounds with 8-Ox, Res, 2-Met and CEFTR with 8-Ox, 2-Met are stable for 1 hour.

The fourth section contains descriptions of new developed methods of SPh determination of AM, OTC, CEFT, CEFTR and their analytical characteristics. The smallest limit of detection is characteristic for methods of determination of AM with STZ,  $C_{\min} = 6.0 \cdot 10^{-7}$  M; OTC with fuchsine,  $C_{\min} = 3.17 \cdot 10^{-6}$  M; CEFT with 2-Meth,  $C_{\min} = 5.7 \cdot 10^{-7}$  M; CEFTR with 2-Meth,  $C_{\min} = 4.3 \cdot 10^{-7}$  M. The offered techniques are sensitive, selective, rather rapid, time of carrying out the analysis (10–30 min). All developed SPh methods of AN determination were successfully tested on the model solution by the method “added-found”, and the method of the AM determination with SAM was tested during the AM quantification in tap water.

Based on the obtained results, the following methods of SPh determination were developed: AM in the reaction of azo coupling with diazotized sulphanilamides in tablets “Amoxil” and “Amoksiklav Quicktab”, in powder for oral suspension “Ospamox”, in suspension for injection “Amoxicillin 15% L.A.”; OTC in the reaction of azo coupling with diazotized fuchsine or 1-diazo-2-naphthol-4-sulfonic acid in powders for oral administration “Oxytetracycline HCl”, “Brovaseptol”, in solution for

injection “Oxy-100”; CEFTR in the reaction of azo coupling with 8-Ox or 2-Meth in powders for the preparation of injectable solvents “Ceftriaxone”, “EMCEPH 1000”; CEFT in the reaction of azo coupling with 8-oxyquinoline, resorcinol, 2-methylphenol in powders for the preparation of injectable solvents “Ceftazidime” and “Denizid”. Methods for AM determination using SAM or STZ and CEFTR with 8-Ox were validated according to the requirements of the DPhU.

The fifth section highlights the possibility of using the AM azo compound with the arenediasonium salt of SAM, as well as CEFTR-based azoimino compounds for the development of methods for VA determination of AM and CEFTR respectively. It was studied that the azoimine compound CEFTR is reduced at  $E_c^{p1} = -0,64$  V, and the azo compound of AM-SAM at  $E_c^{p2} = -0,55$  V. Based on the conducted research new voltammetric determination methods of AM and CEFTR were developed. Their analytical characteristics were calculated, for instance,  $C_{\min} = 2.4 \cdot 10^{-7}$  M for AM, and  $C_{\min} = 2.3 \cdot 10^{-6}$  M for CEFTR. VA method of AM determination by the reaction of azo coupling with SAM were successfully tested and validated during the analysis of tablets “Amoxil” and the analysis of powder for preparation of oral suspension “Ospamox”. The VA determination of CEFTR by the reaction of its own azo coupling was also developed and successfully tested at the analysis of the powder for preparation of injectable solution “Ceftriaxone”.

Key words: Spectrophotometry, cyclic voltammetry, polarography, validation, antibiotics, ceftriaxone, ceftazidime, amoxicillin, oxytetracycline, diazotization, arenediasonium salts, azo coupling, primary aromatic amines, phenolic compounds, drugs.

#### **Publications in which the main scientific results of the thesis are published:**

1. **Kostiv O.** Voltammetric determination of ceftriaxon in pharmaceuticals Voltammetric determination of ceftriaxone by azo coupling reaction / **O. Kostiv**, P. Rydchuk, O. Korkuna // Visnyk Lviv Univ. Ser. Chem. – 2019. – Iss. 60 (1). – P.200–209 (in Ukrainian).

2. **Kostiv O.** Development and validation of the simple and sensitive spectrophotometric method of amoxicillin determination in tablets using

sulphanilamides / **O. Kostiv**, O. Korkuna, P. Rydchuk // Acta Chim. Slov. – 2020, Vol. 67, No. 1. – P. 23–35.

3. Ukrainian patent for invention № 120717. MPK G01N 27/00 (2020). A method for voltammetric determination of amoxicillin in pharmaceuticals / O.Ya. Korkuna, P.V. Rydchuk, **O.I. Kostiv**. – No a201801406. – stated. 13.02.2018; publ. 27.01.2020, Bull. No 2. Applicant and owner – Ivan Franko National University of Lviv.

4. **Kostiv O.** Azocoupling reaction of cephalosporin antibiotics with 8-hydroxyquinoline and its application in the analysis of medicinal products / O. Kostiv, O. Korkuna, M. Ornat // Methods Objects Chem. Anal. – 2020. – Vol. 15, No. 3. – P. 144–155 (in Ukrainian).

5. **Kostiv O.** Spectrophotometric determination of ceftazidime in pharmaceutical using resorcinol and 2-methylphenol / **O. Kostiv, O. Korkuna, M Sheredko** // Voprosy Khimii i Khimicheskoi tekhnologii. – 2021. – No. 1. – P. 35–44 (in Ukrainian).

6. **Kostiv O.** Application of azo compounds of oxytetracycline with 1-amino-2-naftol-4-sulphonic acid for spectrophotometric analysis of veterinary medicines / **O. Kostiv**, O. Korkuna, L. Yanchuk, M. Smolinska // Visnyk Lviv Univ. Ser. Chem. – 2021. – Iss. 62. – P.156–167 (in Ukrainian).

#### **Scientific publications that certify approbation of the thesis:**

1. **Kostiv O.I.**, Korkuna O.Ya. Application of azo coupling reaction for spectrophotometric determination of amoxicillin // Book of abstracts of Kyiv conf. on analytical chemistry “Modern Trends 2016”, October 18–22, 2016, Kyiv. – P. 130–131 (in Ukrainian).

2. **Kostiv O.I.**, Korkuna O.Ya. Optimal conditions for the amoxicillin interaction with some reagents containing in its structure a primary aromatic amino group // Book of abstracts of X Ukrainian scien. conf. for students, and young scientists with the international participation “Current chemical problems”, March 27–29, 2017, Vinnytsia. – P. 19. (in Ukrainian).

3. **Kostiv O.I.**, Korkuna O.Ya. New spectrophotometric methods for the amoxicillin determination with diazotized reagents: sulfanilic acid, streptocide, sulphathiazole and benzidine // Coll. scient. works of the XVI scient. conf. “Lviv chemical readings – 2017”, May 28–31, 2017, Lviv. – P. U10. (in Ukrainian).

4. **Kostiv O.I.**, Korkuna O.Ya. Spectrophotometric determination of amoxicillin in drugs using azo coupling reaction // Book of abstracts of Kyiv conf. on analytical chemistry “Modern Trends 2017”, October 18–21, 2017, Kyiv. – P. 168–169. (in Ukrainian).

5. **Kostiv O.I.**, Korkuna O. Ya., Grytsarovska I.A. The use of sulphanilamide and sulphathiazole to determine the content of amoxicillin in dosage forms and validation of the developed methods // Synthesis and analysis of biologically active substances and medicinal substances: abstracts of Ukrainian scient.-pract. conf. with international participation dedicated to the 80th anniversary of birth. doct. pharm. scien., prof. O.M. Gaidukevich, April 12–13, 2018, Kharkiv. – P. 333

6. **Kostiv O.I.**, Sheredko M.V., Maksymiv I.R., Korkuna O. Ya. Establishment of optimal conditions for ceftazidime diazotization and its subsequent azo coupling with phenolic reagents // Book of abstracts of XII Ukrainian scient. conf. for students, and young scientists with the international participation “Current chemical problems”, March 19–21, 2019, Vinnytsia. – P. 12. (in Ukrainian).

7. **Kostiv O.I.**, Korkuna O. Ya., Rydchuk P.V., Khavchuk M.M. Application of azo coupling reaction for voltammetric determination of amoxicillin // Coll. scient. works of the XVII scient. conf. “Lviv Chemical Readings – 2019”, June 2–5, 2019, Lviv. – P. U43.

8. **Kostiv O.I.**, Ornat M.P., Korkuna O.Ya., Skrobala V.E. Spectrophotometric determination of ceftriaxone in drugs using 8-oxyquinoline // Coll. thesis Ukrainian scientific-practical conf. with international participation “Modern issues of molecular biochemical research and laboratory screening in clinical and experimental medicine – 2020”, March 5–6, 2020, Zaporizhzhia. – P. 16.

9. **Kostiv O.I.**, Grytsarovska I.A., Korkuna O.Ya., Khavchuk M.M. Validation of spectrophotometric method for determination of amoxicillin based on azo coupling

reaction in suspension for injection “Amoxicillin 15% L.A” // Book of abstracts of 21th international. conf. students, PhD students and young scientists “Modern chemistry problems”, May 20–22, 2020, Kyiv. – P. 24.

10. **Kostiv O.I.**, Korkuna O.Ya., Yanchuk L.V. Spectrophotometric determination of oxytetracycline by the reaction of azo coupling with fuchsine and 1-diazo-2-naphthol-4-sulfonic acid // Book of abstracts of Kyiv conf. on analytical chemistry “Modern Trends 2020”, October 21–23, 2020, Kyiv. – P. 24 (in Ukrainian).

11. **Kostiv O.I.**, Korkuna O.Ya., Rydchuk P.V., Khavchuk M.M. Validation of voltammetric method for determination of amoxicillin // Book of abstracts of VII scient. and pract. seminar for students, postgraduates and young scientists “Applied aspects of electrochemical analysis”, October 15–16, 2020, Lviv. – P. 21. (in Ukrainian).

12. **Kostiv O.I.**, Korkuna O.Ya., Ornat M.P. Validation of spectrophotometric method for ceftriaxone determination using 8-oxyquinoline in powder for preparation of solution for injection “Ceftriaxone” // XIII Ukr. scient. conf. of students and postgraduate students “Chemical Karazin readings – 2021”, April 20–21, 2021, Kharkiv. – P. 38–39.

13. **Kostiv O.I.**, Korkuna O.Ya., Ornat M.P., Futryk A.N. Azo compound of ceftriaxone with 2-methylphenol as a derivate for spectrophotometric determination of antibiotic in drugs // Coll. materials of the V Ukrainian science. conf. “Current problems of chemistry: research and prospects”, April 15, 2021, Zhytomyr. – P. 25.

14. **Kostiv O.I.**, Korkuna O.Ya. Azo coupling reaction in the analysis of  $\beta$ -lactam and tetracycline antibiotics // Coll. scient. works of the XVIII sciences. conf. “Lviv chemical readings – 2021”, May 31 – June 25, 2021, Lviv. – P. U43.