

ОБЗОР НА ВЪЗМОЖНОСТИТЕ ЗА ПРИЛОЖЕНИЕ НА ШИФОВИТЕ БАЗИ В СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОТО ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ЛЕКАРСТВА

Бойка Цветкова¹, Ваня Масларска², Миглена Смерикарова²,
Станислав Божанов²

¹Катедра по фармацевтична химия, Фармацевтичен факултет,
Медицински университет – София

²Катедра по химия, Фармацевтичен факултет, Медицински университет – София

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF DRUGS BY MEANS OF SCHIFF BASE FORMATION: A REVIEW

Boyka Tsvetkova¹, Vania Maslarska², Miglena Smerikarova², Stanislav Bozhanov²

¹Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy,
Medical University of Sofia

²Department of Chemistry, Faculty of Pharmacy, Medical University of Sofia

РЕЗЮМЕ

Лекарствените молекули, които не абсорбират във видимата област на спектъра, могат успешно да се трансформират в цветни продукти като най-подходящи за целта са лекарства, съдържащи ароматна нитрогрупа (необходима е предварителна редукция) и ароматна аминогрупа. Дериватизацията се провежда в кисела среда, като се използват различни карбонилни производни - алдехиди. Най-широко се използват 4-диметиламинобензалдехид, ванилин, салицилалдехид, 4-диметиламино канелен алдехид и др. Получените продукти, носещи хромофор, се наричат Шифови бази.

В настоящата обзорна статия са разглеждани възможностите за УВ-спектрофотометричен анализ на ароматни амини и ароматни нитропроизводни след взаимодействието им с различни алдехиди до получаване на кондензационни цветни продукти.

Ключови думи: ароматни амини, редукция, кондензация, Шифова база, цветен продукт, алдехид

ABSTRACT

Molecules that do not ordinarily absorb radiation in the visible region of the spectrum can be made to do so by introducing chromogens that facilitate electronic transitions. The most commonly derivatized functional groups are aromatic nitro- (preliminary reduction required) and aromatic amino- groups.

An amino compound that lacks chromophore can be assayed spectrophotometrically using a suitable carbonyl reagent. Certain amines condense with various aldehydes in strongly acidic media, giving them the ability to give color. Among many, the following aldehydes are widely used: 4-dimethylaminobenzaldehyde, vanillin, p-dimethylaminocinnamaldehyde, salicylaldehyde, etc. The reaction with aromatic amines produces Schiff bases.

In this review, we have summarized and discussed the important analytical chromogenic reagents regularly used in drug analysis by visible spectrophotometric methods.

Keywords: aromatic amine, reduction, condensation, Schiff base, color product, aldehyde

ВЪВЕДЕНИЕ

УВ-спектрофотометрията е утвърден инструментален метод, прилаган при контрола на ка-

чеството на лекарствата. Застъпен е най-вече в качествения и количествения анализ на субстанции и лекарствени форми, а така също и при

Табл. 1. Реактиви, използвани за получаване на Шифови бази

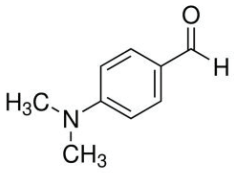
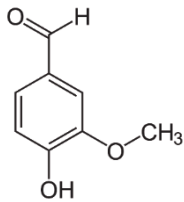
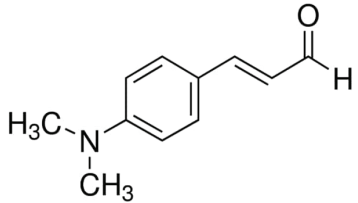
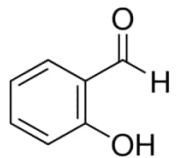
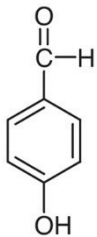
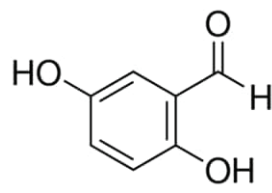
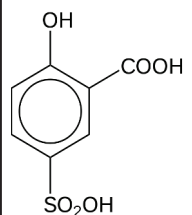
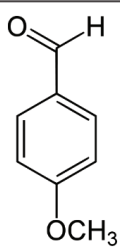
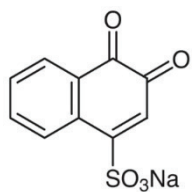
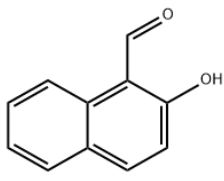
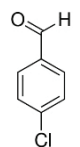
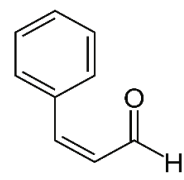
Реактив	Литература	Реактив	Литература
	(1,4,5,6,10,11,12,14, 17,19,20,22,23,32, 33,35,37,41,43,48, 49,51)		(12,13,16,17,25, 28, 30,34,40,45,46,48)
4-dimethylaminobenzaldehyde		vanilin	
	(3,8,15,19,20,26,38)		(2,9,23,29)
p-dimethylaminocinnamaldehyde (PDAC)		salicylaldehyde	
	(9,21,42)		(44)
4-hydroxybenzaldehyde		2,5-dihydroxybenzaldehyde	
	(50)		(43)
5-sulfosalicylaldehyde		anisaldehyde	
	(27)		(9)
1,2-naphthoquinone-4-sulfonate		2-hydroxy-1-naphthaldehyde	
	(47)		(1)
4-chlorobenzaldehyde		cis-cinnamaldehyde	

Табл. 2. Спектрофотометрични методи за количествен анализ на лекарствата, основани на получаване на Шифрови бази

Лекарство	Реактив	λ_{\max} (nm)	Обхват, $\mu\text{g/ml}$	Моларна абсорбируемост $\text{l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$	Литература
metronidazole	vanilin	422	10-65	1.775×10^4	(45)
	4-dimethylaminobenzaldehyde	494	5-40	0.3505×10^4	
metronidasole	4-chlorobenzaldehyde	305	1-35	8.672×10^4	(27)
chloramphenicol	vanillin and anisaldehyde	385	1-10	2491	(6)
		400		3151	
secnidazole	4-dimethylaminobenzaldehyde	494	2.5-15	10907	(1)
	anisaldehyde	398	5-25	4553	
azidoamphenicol	vanilin	393	2-8	-	(26)
dapsonе	4-dimethylaminocinnamaldehyde	548	4-12	3.12×10^3	(35)
		553	4-24	2.582×10^4	
dapsone	4-dimethylaminobenzaldehyde	454	1.6-9.6	1.847×10^4	(5)
metoclopramide	vanilin	410	1.5-15	1.89×10^4	(16)
metoclopramide	2-hydroxy-1-naphthaldehyde	447	2-20	1.15×10^4	(40)
metoclopramide	4-hydroxybenzaldehyde	386	1.01-5.05	2.10×10^4	(32)
metoclopramide	4-dimethylaminocinnamaldehyde	548	5-30	-	(13)
metoclopramide	4-dimethylaminobenzaldehyde	452	0.2-18	3.02×10^4	(18)
metoclopramide	4-dimethylaminobenzaldehyde	438	10-100	2.119×10^3	(36)
isoniazide	cis-cinnamaldehyde	364	0.5-2.5	3.1×10^4	(7)
mesalamine	salicylaldehyde	400	0.2-1.7	-	(11)
mesalamine	vanilin	395	2-30	1.283×10^4	(14)
mesalamine	4-dimethylaminocinnamaldehyde	524	5-25	3.065×10^3	(33)
mesalamine	4-dimethylaminobenzaldehyde	440	50-500	3.744×10^2	(37)
sulfamethoxazole	vanilin	398	5-80	1.1×10^3	(38)
sulfamethoxazole	vanilin	372	1.5-40	-	(50)
sulfamethoxazole	salicylaldehyde	445	5-40	0.0584×10^4	
	4-dimethylaminobenzaldehyde	415	10-70	0.2629×10^4	(46)
sulfathiazole	vanilin	421	5-50	0.4569×10^4	(22)
	4-dimethylaminobenzaldehyde	451	2-24	1.1259×10^4	
furosemide-	vanilin	620	0.2-2.4	1.153×10^6	(21)

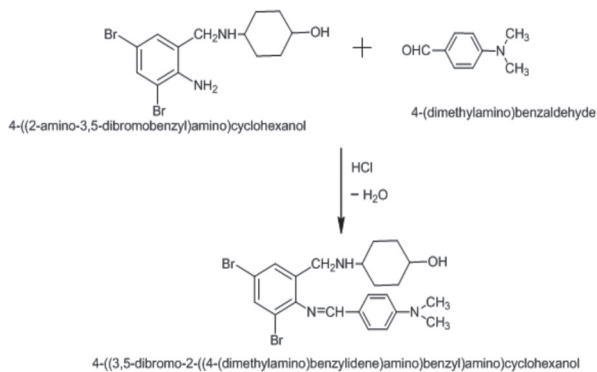
furosemide	5-sulfosalicylaldehyde	608	5-100 ppm	3.9295×10^4	(9)
nateglinide	vanillin	580	25-150	3.92×10^4	(43)
	4-dimethylaminocinnamaldehyde	420	20-140	8.14×10^3	
niosamide	4-diethylaminobenzaldehyde	454	1-17	1.442×10^4	(34)
niosamide	salicylaldehyde	405	4-30	8.701×10^4	(31)
nifedipine	4-dimethylaminobenzaldehyde	434	2-12	2.97×10^4	(20)
nifedipine		441	2-12	3.43×10^4	
nimesulide	4-dimethylaminobenzaldehyde	415	4-24	6.128×10^3	(15)
olanzepine	4-dimethylaminobenzaldehyde	410	5-160	0.6×10^3	(3)
procaine	4-dimethylaminobenzaldehyde	455	0.2-15	3.46×10^4	(30)
abacavir	vanillin	395	50-250		(29)
gancyclovir	4-dimethylaminocinnamaldehyde	524	10-50	1.175×10^3	(39)
gancyclovir	4-dimethylaminobenzaldehyde	401	80-200	0.362×10^3	(28)
acyclovir	vanillin	470	2-10	-	(42)
valacyclovir	4-dimethylaminobenzaldehyde	428	20-100	3.463×10^3	(41)
	vanillin	388	100-500	2.842×10^3	
valacyclovir	4-dimethylaminobenzaldehyde	400	50-250	3.6×10^3	(48)
kanamycin	vanillin	404	5-30	-	(17)
gentamycin	salicylaldehyde	416	99.77-101.78	-	(8)
gentamycin	4-dimethylaminobenzaldehyde	405	0.7-4.40	-	(49)
ceftiofur	4-dimethylaminobenzaldehyde	540	20-120	2.213×10^3	(10)
cefixime	vanillin	414	2-20	8.22×10^4	(4)
gabapentin	2,5-dihydroxybenzaldehyde	445	2.57-37.25	2.1022×10^3	(44)
pramipexol	4-dimethylaminobenzaldehyde	474.5	50-150	1.063×10^3	(19)
carvedilol	4-hydroxybenzaldehyde	533	0.5-5	8.463×10^4	(23)
hydralazine	4-dimethylaminobenzaldehyde	470	2-10	3.652×10^3	(2)
remtrexed disodium	4-dimethylaminocinnamaldehyde	515	2.5-40	1.3×10^4	(25)
	vanillin	470	2.5-35	1.5×10^4	
ambroxol	4-dimethylaminobenzaldehyde	423	5-30	2.0702×10^4	(47)
zolmitriptan	4-dimethylaminocinnamaldehyde	560	5-55	4.668×10^3	(24)
	4-dimethylaminobenzaldehyde	540	10-60	4.237×10^3	
ramiprine	4-dimethylaminobenzaldehyde	503	50-350	0.311×10^4	(12)

провеждане на тестове за чистота. Основните предимства на метода са точност, бързина, малки количества от изследваните вещества, ниска себестойност на анализа.

За целите на ултравиолетовата спектrophотометрия във видимата област често на анализ се подлага не самата лекарствена субстанция, а цветен продукт, получен в резултат на дадена качествена реакция. Така например лекарствата, представляващи ароматни амини, при взаимодействие в кисела среда с алифатни или ароматни алдехиди образуват цветни Шифови бази, наречени на техния откривател Хуго Шиф. Реакцията е кондензационна, а получените съединения съдържат азометинова връзка (C=N).

Разновидност на тази реакция се явява „лигниновата проба“ – микрореакция, която се провежда върху вестникарска хартия. Върху хартията се нанася кристалче от изследвания ароматен амин и капка солна киселина, появява се оранжево-жълто оцветяване. При хидролиза на лигнина се получава ароматен алдехид (4-диметиламинобензалдехид или ванилин в зависимост от вида на лигнина), който взаимодейства с лекарството, съдържащо ароматна аминогрупа. Също така с помощта на тази реакция могат да бъдат успешно доказани и количествено определени и лекарства, съдържащи ароматна нитрогрупа, като предварително биват подложени на редукция.

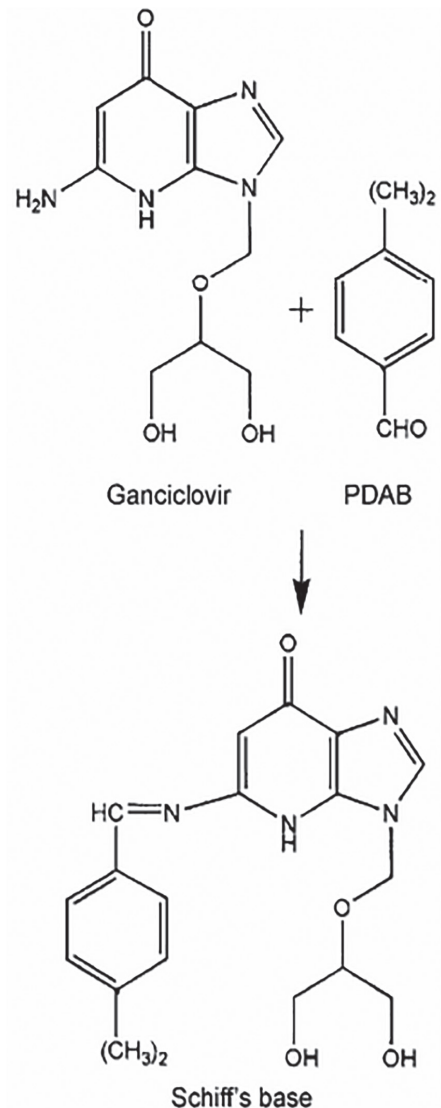
В настоящата обзорна статия са разгледани възможностите за количествено определяне на редица лекарства, представляващи в структурно отношение ароматни амини и ароматни нитропроизводни, чрез получаване на цветни продукти Шифови бази. В табл. 1 са представени структурните формули на широко използвани за целта реактиви. Най-силно застъпена е употребата на 4-диметиламинобензалдехид и ванилин.



Фиг. 1. Взаимодействие на Ambroxol с 4-dimethylaminobenzaldehyde

Резултатите от спектрофотометричните анализи на лекарства с разнообразна фармакологична активност, съдържащи функционални групи, подходящи за получаване на разглежданите в настоящата обзорна статия цветни кондензационни продукти Шифови бази, са обобщени в табл. 2. Посочени са използваните алдехиди, работните дължини на вълната, съответстващи на абсорбционните максимуми, стойностите на моларната абсорбируемост и концентрационните интервали, определени при изследване на валидационния параметър линейност.

На фиг. 1 е показано взаимодействието на 4-диметиламинобензалдехид с муколитичното лекарство ambroxol, съдържащо първична ароматна аминогрупа в структурата си. Siddappa (47, 2014) разработват и валидират чувствителен, прост за изпълнение и достъпен УВ-спектрофотометричен метод за количествен анализ на лекарството във вид на субстанция и включено в

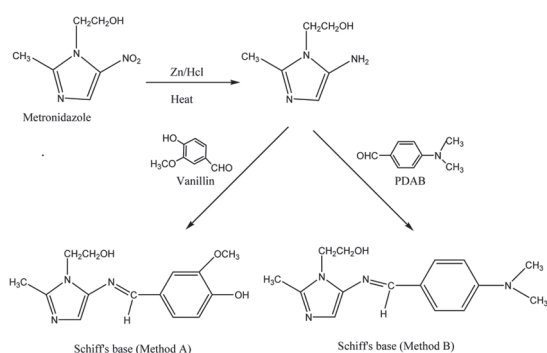


Фиг. 2. Доказване на Gancyclovir

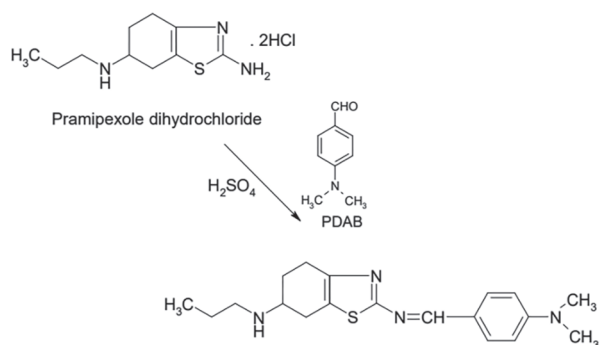
таблетна лекарствена форма, основан на получаване на жълт продукт с максимум в спектъра при 423 nm.

Кумар и съавт. (28) изследват получаване на Шифова база с гореспоменатия реактив за целите на количествения анализ на противовирусното лекарство gancyclovir, съдържащо аминогрупа като заместител в пуриновото ядро (фиг. 2). За посочената аминогрупа са характерни химичните отнасяния на класическата първична ароматна аминогрупа, даващи възможност за встъпване в кондензационна реакция с алдехид.

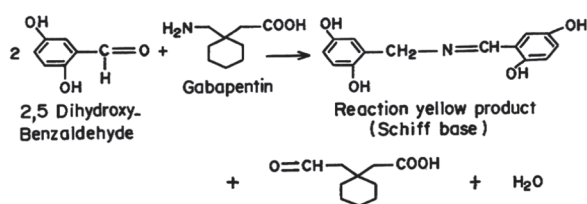
Както вече бе отбелязано, като Шифови бази се анализират и лекарства, съдържащи ароматна нитрогрупа, като за целта предварително се редуцират до ароматни амини. На фиг. 3 е показано получаването на цветни продукти в хода на анализа на антитрихомонадното лекарство metronidazole (45).



Фиг. 3. Идентифициране на Metronidazole



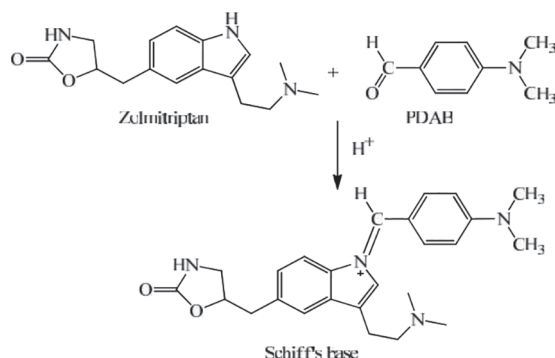
Фиг. 4. Доказване на Pramipexole



Фиг. 5. Идентифициране на Gabapentine

Фиг. 4 и фиг. 5 представят участието в получаването на Шифови бази на антипаркинсоновото лекарство pramipexol (19) и gabapentin (44).

Един по-специфичен в аналитично отношение пример за приложение на 4-диметиламиноцинамалдехид е предложението от Khan и съавт. УВ-спектрофотометричен метод за анализ на антимигренозното лекарство zolmitriptan (24), което не съдържа ароматна аминогрупа, а е производно на индола (фиг. 6). В този случай азотметиновата връзка N=C свързва азотния атом от хетероциклената част на структурата и въглеродния атом от карбонилното съединение.



Фиг. 6. Качествена реакция на Zolmitriptane

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящата обзорна статия са обобщени възможностите за приложение на ултравиолетовата спектрофотометрия във видимата област за анализ на лекарства с подходящи функционални групи – ароматна амино- и ароматна нитрогрупа. За целта анализите са трансформирани в цветни Шифови бази чрез взаимодействието им с разнообразни алдехиди. Методът намира широко приложение и е със значителна аналитична стойност поради сигурните си резултати и простота и бързина на изпълнение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Abdel F, Heba H, Omayama A, Saad Z. Spectrophotometric and HPLC determination of secnidazole in pharmaceutical tablets. J Pharm Biomed Anal. 2000; 22 (6): 887-897.
2. Adegoke O, Nwoke C. Spectrophotometric determination of hydralzine using p-dimethylaminobenzaldehyde. J Iran Chem Soc. 2008; 5: 316-323.
3. Adegoke O, Olusegun T, Damilola M, Oyeronke A. Spectrophotometric determination of olanzapine after condensation with p-dimethylaminobenzaldehyde. J Taibah Univ Sci. 2014; 8 (3): 248-257.

4. Ahmad N. Spectrophotometric determination of cefixime through Schiff's base system using vanillin reagents in pharmaceutical preparations. *Iraqi National J Chem.* 2013; 49: 38-46.
5. Ahmad WS, Abdulaziz MS. Spectrophotometric determination of dapsone in pharmaceutical formulation by Schiff base with p-dimethylaminobenzaldehyde. *Int J Drug Delivery Tech.* 2021; 11(1):141-146.
6. Ahmed BH, Onah JO. Colorimetric determination of chloramphenicol and metronidazole in pharmaceutical formulations after Schiff base formation with vanillin and anisaldehyde. *Global J Pure Applied Sci.* 2003; 9 (3): 359-364.
7. Almani KF, Laghari MG, Memon AH, Rind FM, Mughal UR, Maneshwari ML, et al. Spectrophotometric determination of isoniazid from pharmaceutical preparations using natural aldehyde. *Asian J Chem.* 2013; 25 (5): 2522-2526.
8. Almasri I, Eman A, Ramadan M. Spectrophotometric method for determination of gentamycin in bulk and pharmaceutical dosage forms using salicylaldehyde. *J Natural Sci.* 2019; 21 (1): 69-86.
9. Mohammad A. Modern kinetic spectrophotometric procedure for estimation of furosemide drug as bulk form and in pharmaceutical preparations. *Current Issues Pharm Med Sci.* 2016; 29 (4): 184-189.
10. Annapurna V, Jyothi G, Sailaja BB. Spectrophotometric determination of ceftiofur Hydrochloride using chromogenic reagents. *The IUP J Chemistry.* 2009; 2 (3): 84-93.
11. Anumolu PD, Gurrala S, Gellaboina A, Mangipudi D, Menkana S, Chakka R. Spectrophotometric quantification of anti-inflammatory drugs by application of chromogenic reagents. *Turkish J Pharm Sci.* 2019; 16 (4): 410-415.
12. Badiadka N, Krishnamurthy A, Divya, Kunnummel V. Spectrophotometric determination of ranitidine hydrochloride based on the reaction with p-dimethylaminobenzaldehyde. *Eurasian J Anal Chem.* 2010; 5(1): 63-72.
13. Bahia AM. Determination of some aminobenzoic acid derivatives: glafenine and metoclopramide. *J Pharm Biomed Anal.* 2000; 23: 1045-1055.
14. Chandra BS, Siva SB, Manjusha S, Chaitanya SV, Meghana C, Naga SM. Simple and sensitive spectrophotometric methods for the analysis of meselamine in bulk and tablet dosage forms. *Quim. Nova.* 2011; 34 (6): 1068-1073.
15. Chowdary KP, Kumar K, Devala Rao. New spectrophotometric methods for the determination of nimesulide. *Indian J Pharm Sci.* 1999; 61 (2): 86-89.
16. Devi OZ, K. Basavaiah KD, Vina, HD, Siddappa R. Sensitive spectrophotometric determination of metoclopramide hydrochloride in dosage forms and spiked human urine using vanillin. *Arabian J Chem.* 2016; 9: S64-S72.
17. Elnaggar M, Dina AG, Tarek SB. Green simple spectrophotometric methods for determination of kanamycin sulfate using eosin and vanillin reagents. *Anal Chem Lett.* 2019; 9 (5): 634-648.
18. Enas ST, Abdussamed MS. Development of green spectrophotometric method for determination of metoclopramide Hydrochloride. *Egypt J Chem.* 2021; 64 (7): 3451-3456.
19. Gurupadayya BM, Vishwajith V, Srujana N. Spectrophotometric methods for the estimation of pramipexole dihydrochloride in pharmaceutical formulations. *World J Chem.* 2009; 4 (2): 157-160.
20. Hamd MA, Abdellatif AA, Derayea SM, Abdelmageed OH, Askal HF. Spectrophotometric determination of nifedipine and nicardipine in their pharmaceutical preparations. *Ind Chem.* 2015; 1 (1): 2-4.
21. Hassouna EM, Yousry I, Ashraf GZ. Spectrophotometric determination of furosemide drug in different formulations using Schiff's bases. *Forensic Res Crim Int J.* 2015; 1 (6): 214-221.
22. Humedy I. Spectrophotometric method for the determination of sulfathiazole drug by Schiff's base formation. *Tikrit J Pure Sc.* 2015; 20 (2): 97-104.
23. Ikhlass TS, Alallaf NS, Amer T. Spectrophotometric estimation of carvedilol via Schiff's base reaction with 4-hydroxybenzaldehyde. *Egypt J Chem.* 2022; 65 (1): 151 - 158.
24. Khan PS, Raveendra R, Krishna RV. Visible spectrophotometric methods for the determination of zolmitriptan in bulk and pharmaceutical formulations using aromatic aldehydes and Folin's reagent. *Int J ChemTech Res.* 2013; 5 (6): 2941-2946.
25. Khan S, Raveendra R, Krishna R. Utility of Schiff base formation reactions for the spectrophotometric determination of pemetrexed disodium in bulk and pharmaceutical formulations. *Asian J Chem Res.* 2014; 7 (3): 323-326.
26. Khashaba PY. Spectrophotometric determination of azidoamphenicol in pure form and in combination with other drugs. *Alexandria J Pharm Sci.* 1994; 8 (2): 145-148.
27. Khawla SA, AL-Salman NK, Ekhlas QJ, Hussein HH. Determination and evaluation of doses of metronidazole in different quantities and formulations with multiple spectroscopic Methods. *Sys Rev Pharm.* 2020; 11(5): 81-90.

28. Kumar TA, Gurupadaya BM, Reddy MB. Validated spectrophotometric methods for determination of ganciclovir with PDAB and Folin's reagents. *Indian J Chem Tech.* 2012; 19: 56-62. Стрп
29. Kumar D, Dharani, K. Prabhavathi, N. Rami R. Spectrophotometric determination of abacavir sulphate in pharmaceutical formulations. *World J Pharm Res.* 2015; 4 (6): 1746-1752.
30. Lian DL, Yuan L, Huai Y, Yue S, Li M, Bo T. Use of p-dimethylaminobenzaldehyde as a colored reagent for determination of procaine hydrochloride by spectrophotometry. *Talanta.* 2000; 52: 991 – 999.
31. Mohammed MM, Othman NS, Al-Abady FM. Using of salicylaldehyde reagent in spectrophotometric determination of niclosamide via Schiff base reaction. *Sci, Tech & Public Policy.* 2021; 5 (1): 40-46.
32. Naggar AH, El-Naser A, Mousa SA, Kotb A, El-Sayed AY. Determination of metoclopramide hydrochloride in pharmaceutical formulations using three different spectrophotometric methods. *Pharm Anal Acta.* 2017; 8: 538.
33. Navya SS, Gurupadaya BM, Kumar C. Spectrophotometric determination of mesalamine by PDAC and NQS reagents in bulk and tablet dosage form. *J Pharm Res.* 2011; 4 (1): 39-41.
34. Othman N S, Saleem IT. Spectrophotometric determination of niclosamide via Schiff base formulations in pharmaceutical and veterinary preparations. *Innovaciencia.* 2019; 7 (1): 1-9.
35. Ozlen G, Aydm S. Spectrophotometric determination of drugs having primary amine group with p-dimethylamonocinnamaldehyde. *Turkish J Pharm Sci.* 2007; 4 (1): 31-39.
36. Patel SA, Patel CN, Patel MM. Visible spectrophotometric methods for the estimation of metoclopramide hydrochloride in tablets. *Indian J Pharm Sci.* 2006; 68 (3): 397-399.
37. Patel KM, Patel CN, Panigrahi B, Parikh AS, Patel HN. Development and validation of spectrophotometric methods for the estimation of mesalamine in tablet dosage forms. *J Young Pharm.* 2010; 2 (3): 284-288.
38. Payman A, Nidhal SM, Theia N. Development method for spectrophotometric analysis of sulfamethoxazole using vanillin reagent. *Asian J Applied Chem Res.* 2020; 6 (3): 41-49.
39. Prakash SS, D. Gowrisankar AS, Abdul F. Visible spectrophotometric determination of ganciclovir by condensation and oxidative coupling reactions. *Int J ChemTech Res.* 2010; 2 (1): 282-285.
40. Rabee A, Nabeel O. Spectrophotometric determination of metoclopramide hydrochloride in pharmaceutical preparations via Schiff's base reaction. *Proceedings of the 1st International Ninevah Conference on Medical Sciences (INCMS 2021).*
41. Reddy DV, Prasad BM, Gurupadaya YN, Manohara V, Vijaya B. Spectrophotometric determination of valacyclovir hydrochloride in bulk and pharmaceutical formulations. *Asian J Chem.* 2007; 19 (4): 2797-2800.
42. Reddy SA, Raja C, Saikat S, Parameshappa B. Spectrophotometric determination and validation of acyclovir. *Archiv Appl Sci Res.* 2011; 3 (1): 328-332.
43. Sagar GV, Gangadhara R, Sastry BS. Visible spectrophotometric methods for the determination of nateglinide in tablets through Schiff's base formation. *Indian J Pharm Sci.* 2004; 66 (2): 219-221.
44. Saleh MS, Youssef AK, Hashem EY, Abdel-Kader DA. A novel spectrophotometric method for determination of gabapentin in pharmaceutical formulations using 2,5-dihydroxybenzaldehyde. *Computational Chemistry.* 2014; 2: 22-30.
45. Siddappa K, Mallikarjun M, Reddy PT, Tambe M. Spectrophotometric determination of metronidazole through Schiff base system using vanillin and PDAB reagents in pharmaceutical preparations. *Ecl Quim, Sao Paulo.* 2008; 33 (4): 41-46.
46. Siddappa K, Mahesh T, Mallikarjun M, Mallikarjun K. Spectrophotometric methods for the determination of sulfamethaxazole by a Schiff's base reactions in pure and pharmaceutical dosage forms. *J Pharm Res.* 2011; 4 (2): 308-311.
47. Siddappa K, Hanamshetty PC. Spectrophotometric quantitative determination of ambroxol hydrochloride in bulk and pharmaceutical dosage forms using PDAB reagent. *Int J Pharm Sci Res.* 2014; 5(10): 4188-4194.
48. Srihari GN, Rami R, Nagaraja S, Chakravarthi I. Spectrophotometric determination of Valacyclovir in pharmaceutical formulations. *Chem Sci Transactions.* 2013; 2(1): 61-64.
49. Wang H, Jiancheng R, Yici Z. Use of p-dimethylaminobenzaldehyde as a coloured reagent for determination of gentamycin. *Talanta.* 1993; 40 (6): 851-853.
50. Zaman SM. Analytical method development for the spectrophotometric determination of Sulfamethoxazole in bulk drug and pharmaceutical preparation. *J Chem Biochemi.* 2015; 3 (1): 63-74.

Адрес за кореспонденция:

Доц. Бойка Цветкова
 Фармацевтичен факултет
 ул. „Дунав“ 2
 1000, София
 e-mail: btsvetkova@pharmfac.mu-sofia.bg