

**ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**

ПЛОТИЦЯ СЕРГІЙ ІВАНОВИЧ

УДК 543.552:543.632.562

**ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ МІСЦЕВИХ АНЕСТЕТИКІВ
ГРУПИ АМІДІВ З ПОПЕРЕДНЬОЮ ДЕРИВАТИЗАЦІЄЮ**

02.00.02 – аналітична хімія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата хімічних наук

Ужгород – 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі аналітичної хімії Львівського національного університету імені Івана Франка, Міністерство освіти і науки України, м. Львів.

Науковий керівник: кандидат хімічних наук, доцент
Дубенська Лілія Осипівна
Львівський національний університет
імені Івана Франка,
завідувач кафедри аналітичної хімії,
м. Львів

Офіційні опоненти: доктор хімічних наук, професор
Сухарев Сергій Миколайович
ДВНЗ «Ужгородський національний університет»,
завідувач кафедри екології
та охорони навколишнього середовища,
м. Ужгород

кандидат хімічних наук, доцент
Тананайко Оксана Юріївна
Київський національний університет
імені Тараса Шевченка,
завідувач кафедри аналітичної хімії,
м. Київ

Захист відбудеться «15» січня 2021 року о 13:00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 61.051.03 з хімічних наук в ДВНЗ «Ужгородський національний університет» за адресою: 88000, м. Ужгород, вул. Підгірна, 46, хімічний факультет, ауд. № 201.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДВНЗ «Ужгородський національний університет» (88000, м. Ужгород, вул. Університетська, 14).

Автореферат розісланий «26» листопада 2020 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої
ради К 61.051.03



Стерчо І. П.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Для ефективної місцевої анестезії у різних галузях медицини вже більше ніж сто років використовують анестетики групи амідів. Тим не менше, анестетики (АН) можуть викликати багато побічних ефектів, зокрема, серцево-судинні, неврологічні, алергічні реакції, навіть анафілактичний шок. Тому безпечне та ефективне використання лікарських засобів потребує багаторівневого контролю їхньої якості на всіх етапах виготовлення, починаючи від синтезу субстанції і завершуючи отриманням готових лікарських форм. Актуальним залишається розроблення нових методик аналізу в зв'язку з фальсифікатами лікарських препаратів. Крім того, треба контролювати вміст діючих речовин не тільки в готових лікарських формах, а й їхні залишкові кількості й метаболіти у фізіологічних рідинах. Отже, кількісне визначення АН у фармпрепаратах, у крові, сечі та інших біологічних матеріалах є важливим.

Надійним методом визначення місцевих анестетиків (МА) у багатокомпонентних лікарських засобах (ЛЗ), а також у біологічних рідинах є хроматографія, зокрема, вискоефективна рідинна. Попри високу селективність і низькі межі визначення, для хроматографії властиві висока вартість обладнання та витратних матеріалів, тривалість аналізу, потреба у токсичних органічних розчинниках. Перспективною альтернативою є методи вольтамперометрії (ВА). Метод ВА повністю задовольняє вимогам селективності, чутливості, надійності, а також зеленої хімії, оскільки не потребує органічних розчинників, а ВА зі швидкою розгорткою можна розглядати як метод скринінгу, для якого характерні низька межа визначення і швидкий відклик. Крім того, вважають, що між процесами перенесення електронів, які відбуваються на електроді та в клітинах живого організму, існує певна подібність. Тому метод ВА доцільно використовувати для дослідження механізму відновлення–окиснення, стабільності, здатності адсорбуватися, кінетики гідролізу лікарських речовин (ЛР) тощо. Знання цих властивостей ЛР дає змогу оцінити і прогнозувати шляхи їхнього метаболізму під час редокс-реакцій *in vivo*, а також їхню фармакологічну активність.

Для розширення можливостей аналізу у сучасній ВА використовують електроди з різних матеріалів (шляхетні метали, різні модифікації вуглецю тощо), а також модифікування поверхні електродів (електропровідними полімерами, вуглецевими нанотрубками, графеном, наночастинками, різними композитами тощо). Особливе місце посідають електроди на основі ртуті, що пов'язано з широким катодним діапазоном потенціалів, можливістю концентрування аналітів, ідеально гладкою поверхнею, яка легко оновлюється, а тому відтворюваність вимірювань є дуже високою.

Отже, дослідження процесів відновлення–окиснення АН на електродах різної природи й розроблення на цій основі нових методик визначення АН у складних об'єктах є актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є частиною досліджень, які виконували на кафедрі аналітичної хімії Львівського національного університету імені Івана Франка в межах держбюджетних тем “Сорбенти українських родовищ у пробопідготовці, аналізі та очищенні вод, технологічних розчинів, біосубстратів і лікарських засобів”

(№ держреєстрації: 0113U003054; термін виконання: 01.01.2013 – 31.12.2015 р.р.) і “Закарпатські цеоліти в аналітичній хімії розсіяних елементів, бактерицидних, протипухлинних засобів та інших біологічно активних речовин” (№ держреєстрації: 0116U001541; термін виконання: 01.02.2016 – 31.12.2018 р.р.).

Мета і завдання дослідження.

Реалізувати різні підходи для отримання вольтамперометрично активних форм місцевих анестетиків групи амідів і таким чином розширити аналітичні можливості їхнього визначення у різних складних об'єктах.

Для реалізації мети треба було вирішити такі **завдання**:

- використовуючи реакції окиснення, діазотування, азосполучення, одержати деривати АН, здатні до відновлення на ртутному краплинному електроді (р.к.е.), уніфікувати процедури одержання дериватів;
- визначити оптимальні умови відновлення різних дериватів на р.к.е.;
- модифікувати графітовий і платиновий електроди композитами на основі поліаніліну та дослідити електрохімічну поведінку цих електродів у розчинах, що містять АН;
- дослідити можливість використання мініатюрного плівкового алмазного, допованого бором, електрода для вольтамперометричного визначення АН;
- розробити методики вольтамперометричного визначення АН в складних лікарських засобах та в біологічних рідинах.

Об'єкт дослідження. Дериватизація АН шляхом їхнього окиснення пероксикислотами, діазотування й азосполучення, відновлення одержаних дериватів на р.к.е., модифікування графітового і платинового електродів для ВА визначення АН.

Предмет дослідження. Аналітичні форми для вольтамперометричного визначення анестетиків групи амідів (лідокаїну (Лд), тримекаїну (Тр), мепівакаїну (Меп), бупівакаїну (Буп), новокаїну (Нов), а також бензокаїну (Бен)).

Методи дослідження. Різновиди вольтамперометрії (циклічна, лінійна зі швидкою розгорткою, диференційна імпульсна (ДІВ), квадратно-хвильова (КХВ)) з використанням різних робочих електродів, хроноамперометрія, рН-метрія.

Наукова новизна одержаних результатів.

Запропоновано різні підходи для отримання електрохімічно активних аналітичних форм місцевих анестетиків АН: хімічне й електрохімічне окиснення, діазотування, азосполучення.

Науково обґрунтовано, що для хімічного окиснення (дериватизації) АН серед багатьох окисників доцільніше використовувати калій пероксимоносульфат (КПМС). Доведено, що при цьому анестетики групи амідів утворюють N-оксиди, а Нов і Бен окиснюються за первинною аміногрупою. Калій пероксимоносульфат для дериватизації Нов і Бен використано вперше.

Встановлено, що N-оксиди необоротно відновлюються на р.к.е. у межах рН 2,0 – 8,0 за участю одного електрона і одного протона з утворенням одного піка на полярограмі, а продукти окиснення Нов і Бен відновлюються на р.к.е. у межах рН 2,0 – 8,0 з утворенням від одного до чотирьох піків на полярограмі (залежно від рН) за участю чотирьох електронів і трьох протонів за рН 4,0. Запропоновано механізми відновлення на р.к.е. відповідних дериватів.

Вперше для вольтамперометричного визначення Бен використали мініатюрний товстоплівковий алмазний електрод, допований бором (АДБЕ). Бен необоротно окиснюється на цьому електроді в межах рН 2,0 – 12,0 за участю двох електронів і одного протона з утворенням одного піка на вольтамперограмі. Запропоновано механізм окиснення Бен на АДБЕ.

Вперше для полярографічного визначення Бен та Нов використано їхні діазосоли, а також відповідні азосполуки з резорцином. Встановлено, що діазосоли АН відновлюються на р.к.е. легше, ніж відповідні азосполуки, а результати визначення за відновленням діазосолей є точнішими.

Практичне значення одержаних результатів.

Уніфіковано прості процедури одержання полярографічно-активних дериватів АН: N-оксидів Лд, Тр, Меп, Буп за допомогою КПМС; продуктів окиснення Нов і Бен за допомогою КПМС; діазосолей Нов і Бен та відповідних їм азосполук з резорцином. Встановлено оптимальні умови відновлення на р.к.е. цих дериватів. Головною особливістю методики визначення АН з використанням N-оксиду як аналітичної форми є можливість прямого визначення метаболітів анестетиків – їхніх N-оксидів, крім того, N-оксиди можуть бути домішкою у субстанції АН.

Розроблено нові методики полярографічного визначення МА, для яких характерні широкі межі лінійності (1,5-2 порядки), низька межа визначення (10^{-7} – 10^{-6} моль/л), достатня точність і селективність. Встановлено, що метрологічні характеристики полярографічного визначення Бен і Нов з дериватизацією за реакціями діазотування й азосполучення є високими, однак економічні характеристики визначення цих АН ліпші з використанням реакції окиснення.

Розроблено нові методики визначення Бен у складних лікарських засобах і модельних зразках сечі людини з використанням мініатюрного товстоплівкового алмазного допованого бором електрода. Методом ДІВ з використанням цього робочого електрода можна досягнути межі виявлення Бен 80 нмоль/л з мінімальною пробопідготовкою.

Нові методики перевірено під час аналізу однокомпонентних розчинів для ін'єкцій, комбінованих лікарських засобів, а також на модельних зразках слини і сечі людини. Результати аналізу порівнювали з результатами випробувальних лабораторій Державної адміністрації України з лікарських засобів, які надали сертифікати якості. Окремі методики було валідовано згідно з ДФУ. Результати валідаційної оцінки підтвердили коректність напрацьованих методик.

Методику полярографічного визначення Бен з дериватизацією за реакцією окиснення калій пероксимоноссульфатом (у таблетках від болю горла “Фарисіл”) впроваджено у лабораторний практикум дисципліни за вибором студента “Аналіз лікарських засобів” для студентів освітнього рівня “магістр” хімічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка. Методики полярографічного визначення Лд, Бен та Нов з дериватизацією за реакцією окиснення калій пероксимоноссульфатом (у розчинах для ін'єкцій) впроваджено у практику ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів.

Особистий внесок здобувача полягає в аналізі даних літератури за темою дисертації, виконанні більшості експериментальних досліджень, статистичному опрацюванні одержаних результатів. Постановка задач дослідження, аналіз і

узагальнення результатів, формулювання висновків, написання статей здійснено спільно з науковим керівником к.х.н., доц. Л.О. Дубенською. Окремі результати щодо використання у роботі пероксикислот обговорено з д.х.н., проф. М.Є. Блажеєвським. Дослідження з використанням алмазного електрода виконано в інституті аналітичної хімії Технологічного університету Братіслави (Словацька Республіка) спільно з к.х.н., доц. С.В. Писаревською і обговорено з доцентом цього інституту PhD Л. Шворцом. Частину експериментальних досліджень проведено спільно зі студентами М.Я. Пилипець, О.М. Сарахман, В. Демелько, О.А. Стронціцькою, К.М. Плотніковою, які виконували магістерські роботи під керівництвом Л.О. Дубенської.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи оприлюднено на IV, V і VI Науково-практичних семінарах студентів, аспірантів і молодих учених “Прикладні аспекти електрохімічного аналізу” (Львів, 2014, 2016, 2018), Київських конференціях з аналітичної хімії “Сучасні тенденції” (Київ, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018), XV і XVI Наукових конференціях “Львівські хімічні читання” (Львів, 2015, 2017), XV Ukrainian–Polish symposium “Theoretical and experimental studies of interfacial phenomena and their technological application” (Lviv, 2016), X Українській науковій конференції студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю “Хімічні проблеми сьогодення” (Вінниця, 2017), XVIII міжнародній конференції студентів та аспірантів “Сучасні проблеми хімії” (Київ, 2017), VIII Українському з’їзді з електрохімії (Львів, 2018), Всеукраїнській науковій конференції з міжнародною участю “Аналітична хімія – методи та інструменти” (Ужгород, 2019).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 9 статей, серед них 6 у журналах, які індексуються міжнародними наукометричними базами Scopus і Web of Science (три – у журналах з Impact Factor), а також 14 тез доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається зі вступу, п’яти розділів, до кожного розділу наведено список цитованої літератури, висновків, чотирьох додатків. Загальний обсяг дисертації становить 181 сторінка друкованого тексту, з яких основний текст становить 150 сторінок, містить 63 рисунки, 64 таблиці.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми, сформульовано мету та завдання дослідження, зазначено наукову новизну та практичне значення одержаних результатів.

У **першому розділі** наведено огляд літератури, в якому коротко охарактеризовано МА з погляду їхніх хіміко-фармакологічних властивостей, детально розглянуто методи визначення МА у лікарських формах і біологічних рідинах. З особливою увагою описано використання методу ВА в аналізі ЛЗ загалом і для визначення АН зокрема: проаналізовано механізми електрохімічного перетворення МА на робочих електродах різної природи, аналітичні характеристики ВА методик визначення МА, окреслено переваги і недоліки використання ВА.

У **другому розділі** описано використані у роботі вихідні речовини, зокрема, субстанції АН, приготування вихідних розчинів АН, приготування і стандартизацію розчинів окисників; описано використане обладнання, методики експериментальних

досліджень, методику виготовлення композитних електродів, процедуру вимірювань і статистичне опрацювання результатів аналізу (валідація).

Третій розділ присвячено реакціям окиснення для вольтамперометричного визначення МА. Висновок про перспективність використання реакцій окиснення (хімічного й електрохімічного) зроблено на підставі огляду літератури. Зокрема, N-оксиди АН групи амідів, аналогічно до N-оксидів інших третинних амінів, є полярографічно активними. На прикладі Лд для хімічного окиснення АН опрацьовано використання низки окисників. Калій дихромат, калій перманганат, амоній або калій персульфат взаємодіють з Лд, однак незначні зміни на полярограмах продуктів окиснення не можна використати для кількісного визначення АН. Натомість кислота Каро, потрійна сіль калій пероксимоносульфату (комерційний Оксон, КПМС), пероксифталева (ПФК) і метаклоропербензенова (МХПК) кислоти окиснюють Лд до його N-оксиду. Метрологічні характеристики визначення Лд у формі його N-оксиду з використанням усіх досліджених окисників є приблизно однаковими. Проте наявність у розчині надлишку органічних пероксикислот впливає на вигляд фонові лінії і збільшує фоновий струм. Крім того, водні розчини органічних пероксикислот менш стабільні у часі (їхня концентрація зменшується внаслідок розкладання), а окиснення АН відбувається повільніше. Тому для дериватизації АН доцільніше використовувати пероксимоносульфат: високочистий комерційний реагент Оксон або кислоту Каро, яку легко синтезувати в лабораторних умовах з доступних реактивів.

Наявність третинної аміногрупи у молекулі МА зумовлює подібність процесів їхнього окиснення КПМС та відновлення на р.к.е. відповідних N-оксидів (рис. 1). Для всіх АН простежується один пік відновлення в межах потенціалів $-0,4 - -0,6$ В. Анодних піків нема, що свідчить про повністю необоротний процес. Потенціали піків відновлення для різних МА відрізняються, тому є можливою їхня якісна ідентифікація. Полегшується відновлення N-оксидів МА в ряді Лд < Тр < Меп < Буп, що повністю узгоджується зі структурою самих МА.

Максимальний вихід N-оксидів МА простежується у слабо лужному середовищі ($\text{pH}_{\text{окс}} 8 - 9$), тоді як відновлювати на р.к.е. N-оксиди доцільно у слабо кислому середовищі: струм піку відновлення N-оксидів досягає максимального значення в межах $\text{pH}_{\text{пол}} 3 - 5$ (рис. 2). Як середовище для окиснення досліджували боратний, аміачний, карбонатний, фосфатний і універсальний (УБС) буферні розчини. При використанні фосфатного й УБС буферів одержано дещо вищі струми відновлення N-оксидів. Для підкислення розчину до $\text{pH}_{\text{пол}}$ можна використовувати ацетатну, форміатну, хлоридну чи фосфатну кислоту.

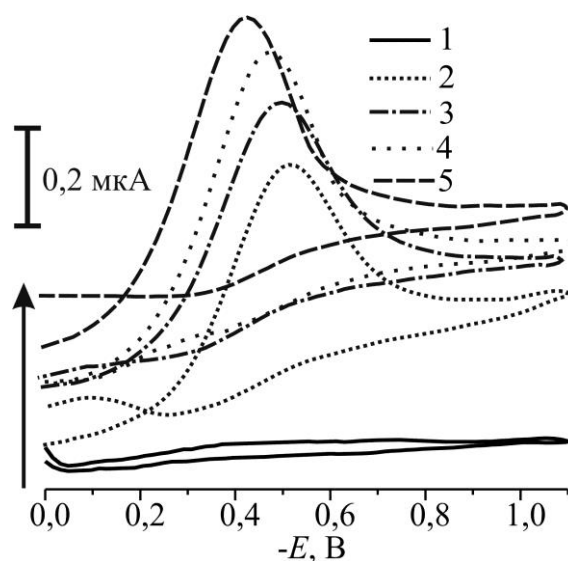


Рис. 1. Циклічні полярограми на фоні фосфатного буферу з $C_{\text{буф.}} \sim 0,2$ М, $C_{\text{АН}} = 5,0 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{КПМС}} = 1 \cdot 10^{-4}$ М; $V = 0,5$ В/с, $\text{pH } 3,0$ фоновий електроліт (1), Лд (2), Тр (3), Буп (4), Меп (5).

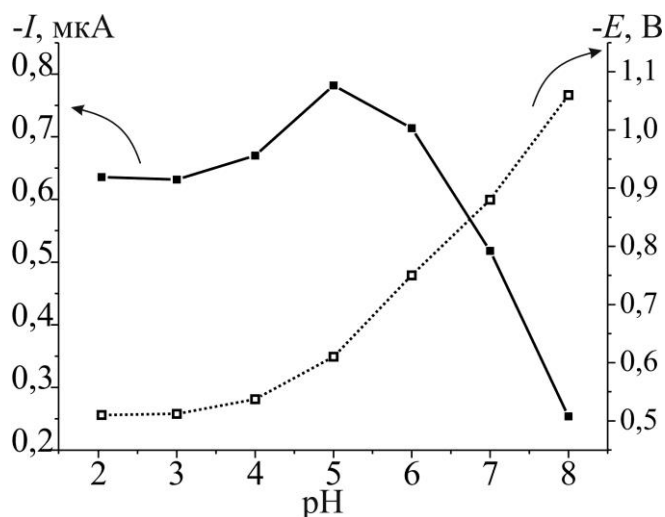


Рис. 2. Залежність полярографічних характеристик відновлення N-оксиду Лд від рН на фоні фосфатного буферу $C_{\text{буф}} \sim 0,2 \text{ М}$, $C_{\text{Лд}} = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, $C_{\text{КПМС}} = 1,0 \cdot 10^{-4} \text{ М}$.

залишковий (фоновий) струм, і дещо спотворюється фонові лінії полярограми. Залишковий струм, зумовлений відновленням надлишку КПМС, можна зменшити, додаючи у розчин відновники, які взаємодіють з надлишком окисника, найдоцільніше – аскорбінову кислоту.

Зі збільшенням $\text{pH}_{\text{пол}}$ відновлення утруднюється: за $\text{pH} > 4$ потенціали піків відповідних N-оксидів МА зміщуються в негативний бік (рис. 2). Отже, в електрохімічній реакції беруть участь іони H^+ . Залежності $-E(\text{В})$ від $\text{pH}_{\text{пол}}$ за $\text{pH} > 4$ є лінійними й описуються рівняннями виду $E = (a \pm \Delta a) + (b \pm \Delta b) \cdot \text{pH}$. Значення параметра b цих рівнянь дає змогу оцінити співвідношення кількості протонів до кількості електронів, які беруть участь у електрохімічній реакції m_{H^+}/n . Для всіх досліджених речовин співвідношення m_{H^+}/n є близьким до 1. За значеннями потенціалів піку E_p та півпіку $E_{p/2}$ (за різних рН, концентрації АН і КПМС) обчислили кількість електронів n , які беруть участь у електрохімічній реакції, і зробили висновок, що електрохімічний процес відновлення досліджених N-оксидів є одноелектронним і супроводжується приєднанням одного протону. Згідно із результатами аналізу залежностей $I_p = f(V^{1/2})$ і $\lg I = f(\lg V)$, відновлення N-оксидів МА контрольоване дифузією з можливими незначними кінетичними обмеженнями, а вклад адсорбції є низьким. Отже, відновлення N-оксидів МА на р.к.е. відбувається за схемою:

На кількісний вихід N-оксиду АН впливають тривалість окиснення, концентрація окисника (його молярний надлишок), температура розчину. Дослідження показали, що окиснення АН має тривати не менше 5 хв, а після 5 хв кількість продукту не змінюється, тому окиснювали АН впродовж 5-6 хв (рис. 3).

Двократний надлишок КПМС достатній для максимального виходу N-оксиду. У межах від 2- до 100-кратного надлишку КПМС полярографічні характеристики відновлення N-оксидів не змінюються. Проте, бажано, щоб концентрація КПМС у розчині не перевищувала 10^{-4} М , оскільки через відновлення КПМС збільшується

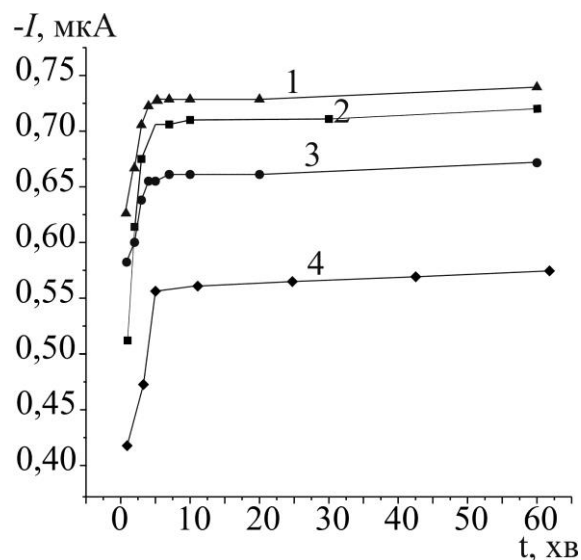
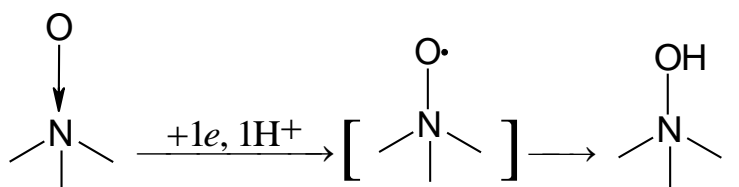


Рис. 3. Вплив тривалості окиснення на струм відновлення АН на фоні фосфатного буферу. $C_{\text{АН}} = 5,0 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, $C_{\text{КПМС}} = 1 \cdot 10^{-4} \text{ М}$, $\text{pH}_{\text{пол}} = 3,0$; 1 – Лд; 2 – Тр; 3 – Меп; 4 – Буп.



На підставі виконаних досліджень визначили оптимальні умови полярографічного визначення Лд, Тр, Меп і Буп у формі їхніх N-оксидів, одержаних за допомогою КПМС. За оптимальних умов струм відновлення дериватів лінійно залежить від концентрації АН в широких межах (табл. 1). Межа визначення АН майже на два порядки менша, ніж для відомих титриметричних чи спектрофотометричних методик, і може конкурувати з деякими хроматографічними. Доцільно було також порівняти метрологічні характеристики полярографічного визначення Лд і Тр за рН 3,0, за якого незначні зміни рН мало впливають на значення аналітичного сигналу; і за рН 5,0, за якого простежувалися найвищі значення струму відновлення N-оксидів (рис. 2). Як виявилось на прикладі Тр, інструментальна чутливість за рН 5,0 очікувано є дещо вищою, а межа виявлення – дещо меншою, порівняно з цими ж параметрами за рН 3,0. Однак, збіжність результатів вимірювання за рН 5,0 є гіршою, що вплинуло на значення RSD, Δb , Δa і R.

Таблиця 1. Метрологічні характеристики полярографічного визначення МА у формі їхніх N-оксидів.

Параметри		Лд	Тр		Меп	Буп
рН _{пол}		3,0	3,0	5,0	5,0	5,0
Межі лінійності, моль/л		$1,8 \cdot 10^{-6} - 5,0 \cdot 10^{-5}$	$1,1 \cdot 10^{-6} - 5,0 \cdot 10^{-5}$	$2,0 \cdot 10^{-6} - 5,0 \cdot 10^{-5}$	$1,2 \cdot 10^{-6} - 5,0 \cdot 10^{-5}$	$1,0 \cdot 10^{-6} - 5,0 \cdot 10^{-5}$
Коефіцієнт кореляції, R		0,9993	0,9994	0,9966	0,9996	0,9993
b, мкА·моль ⁻¹ ·л		$1,30 \cdot 10^4$	$1,25 \cdot 10^4$	$1,73 \cdot 10^4$	$1,31 \cdot 10^4$	$1,34 \cdot 10^4$
Δb		$4,2 \cdot 10^2$	$3,5 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^3$	$3,5 \cdot 10^2$	$2,2 \cdot 10^2$
a, мкА		$4,9 \cdot 10^{-2}$	$4,1 \cdot 10^{-2}$	$6,3 \cdot 10^{-2}$	$3,6 \cdot 10^{-2}$	$3,1 \cdot 10^{-2}$
Δa		$1,2 \cdot 10^{-2}$	$0,8 \cdot 10^{-2}$	$1,7 \cdot 10^{-2}$	$0,8 \cdot 10^{-2}$	$0,5 \cdot 10^{-2}$
RSD, %		1,13	0,78	7,02	0,74	1,21
Межа визначення (LOQ)	моль/л	$4,2 \cdot 10^{-6}$	$2,8 \cdot 10^{-6}$	$2,2 \cdot 10^{-6}$	$2,8 \cdot 10^{-6}$	$3,6 \cdot 10^{-6}$
	ppm	0,98	0,69	0,54	0,68	1,0
Межа виявлення (LOD)	моль/л	$1,4 \cdot 10^{-6}$	$9,3 \cdot 10^{-7}$	$6,7 \cdot 10^{-7}$	$9,1 \cdot 10^{-7}$	$1,1 \cdot 10^{-6}$
	ppm	0,32	0,23	0,16	0,22	0,31

Наявність первинної аміногрупи у молекулах Бен і Нов зумовлює подібність процесів їхнього окиснення КПМС та відновлення на р.к.е. відповідних дериватів. Вигляд полярограм продуктів окиснення Бен і Нов істотно залежить від рН полярографованого розчину (рН_{пол}) (рис. 4). За рН < 4,5 продукти окиснення Нов

відновлюються з утворенням двох піків: -0,13 – -0,3 В (перший пік, П1) і -1,15 В (другий пік, П2). Пік П2 широкий і нечіткий. За $\text{pH} > 4,5$ струм піку П1 зменшується, а біля П1 з'являються два нових П3 і П4.

На полярограмах Бен на фосфатному буфері в досліджуваних межах pH простежувався один пік П1. За $\text{pH} > 8$ цей пік розділяється аналогічно, як і піки відновлення деривату Нов. Піку, який відповідає П2 для Нов, не спостерігали на полярограмах деривату Бен.

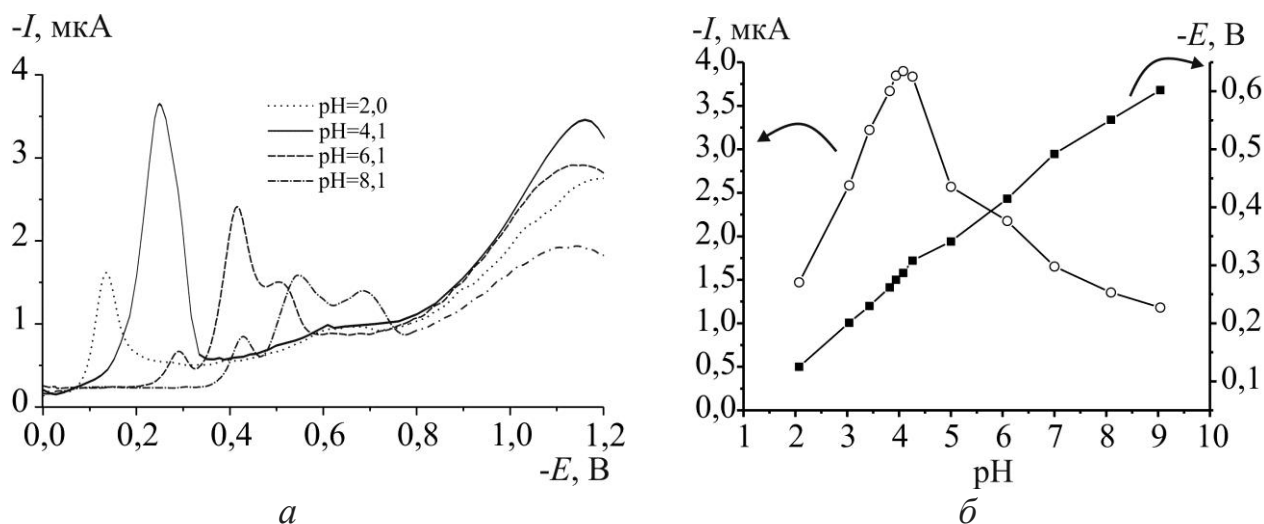


Рис. 4. Вигляд катодних полярограм (а) та залежність струму і потенціалу П1 (б) від $\text{pH}_{\text{пол}}$ деривату Нов на фоні фосфатного буферу, $C_{\text{Нов}} = 5,0 \cdot 10^{-5}$ М, $C_{\text{КПМС}} = 1,0 \cdot 10^{-3}$ М.

Оптимальні умови окиснення і полярографічного визначення Бен та Нов визначали в аналогічних експериментах, як і для інших АН. Максимальний вихід продуктів окиснення Бен і Нов простежується за pH 9, тоді як відновлювати на р.к.е. ці деривати доцільно у слабо кислому середовищі: струм найвищого піку відновлення дериватів П1 досягає максимального значення у вузьких межах pH 3,8 – 4,5. Інші умови: не менше, ніж п'ятикратний надлишок КПМС, тривалість окиснення не менше, ніж 10 хв за температури для Бен 45-55 °С і 75-85 °С для Нов.

Продукти окиснення необоротно відновлюються на р.к.е. за участю чотирьох електронів і трьох протонів (обчислено для П1 за pH 4,0). У разі окиснення Бен і Нов за кімнатної температури з використанням надлишку окисника пік П1 з'являється на полярограмах після окиснення впродовж 60 хв. Відомо, що первинні аміни в м'яких умовах окиснюються пероксидними сполуками до гідроксиламіну або далі до нітрозосполук. У більш жорстких умовах, зокрема при нагріванні, первинні аміни можуть бути окиснені до нітросполук. Відомо також, що в середовищі концентрованої сульфатної кислоти Бен може окиснюватися з утворенням кольорових продуктів. Якщо вважати, що при дії надлишку окисника і з нагріванням відбувається повне окиснення первинної аміногрупи Бен і Нов до нітрогрупи, то на електроді нітрогрупа за участю чотирьох електронів відновлюється до гідроксиламіну. Це добре узгоджується з літературними даними. В іншому разі аміногрупа окиснюється до нітрозосполуки, а на електроді відбувається відновлення знову до аміногрупи. В лужному середовищі відновлення відбувається постадійно, а також ускладнюється адсорбцією для Нов. Катодний пік П2 похідного Нов, який не простежувався на полярограмах для Бен, може бути зумовлений

відновленням N-оксиду третинної аміногрупи Нов, за аналогією до інших АН групи амідів (Лд, Тр, Меп і Буп).

За оптимальних умов окиснення Бен і Нов та одержання полярограм струм відновлення дериватів лінійно залежить від концентрації АН в широких межах від $1 \cdot 10^{-6}$ до $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л з коефіцієнтом кореляції, який прямує до 1. Це дає змогу використовувати залежності I , мкА від $C_{\text{АН}}$, моль/л для кількісного визначення Бен чи Нов. Межа визначення для Бен та Нов становить, відповідно, $1,8 \cdot 10^{-6}$ і $1,9 \cdot 10^{-6}$ моль/л, а межа виявлення – $5,6 \cdot 10^{-7}$ і $6,0 \cdot 10^{-7}$ моль/л.

Бен окиснюється на мініатюрному товстоплівковому алмазному, допованому бором, електроді (АДБЕ) з утворенням одного необоротного піка (рис. 5) за потенціалів від +0,9 до +1,18 В (залежно від рН) за участю двох електронів і одного протона (відповідає окисненню аміногрупи). Процес окиснення Бен на АДБЕ дифузійно контрольований.

Плівковий АДБЕ для визначення АН використано вперше. За оптимальних умов струм окиснення лінійно залежить від концентрації Бен у широких межах концентрацій від $1 \cdot 10^{-7}$ до $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л з коефіцієнтом кореляції, який прямує до 1. Це дає змогу використовувати залежність I , мкА від C , моль/л для кількісного визначення Бен. Межа визначення Бен за окисненням на АДБЕ методом ДІВ становить $2,7 \cdot 10^{-7}$ моль/л, а методом КХВ – $3,2 \cdot 10^{-7}$ моль/л, а межа виявлення, відповідно, – $8,0 \cdot 10^{-8}$ моль/л і $1,0 \cdot 10^{-7}$ моль/л. Це суттєво менше, ніж для багатьох відомих методик визначення цього АН. Тому розроблений нами підхід можна успішно використати для визначення Бен у ЛЗ та біологічних рідинах.

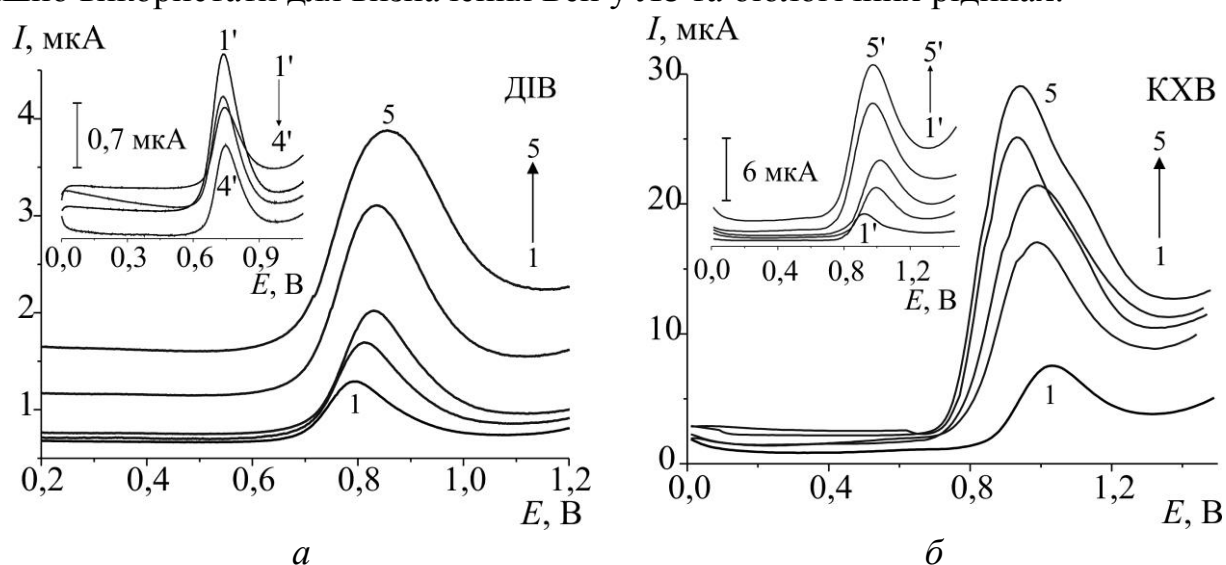


Рис. 5. Вигляд анодних вольтамперограм АДБЕ у розчині Бен з $C_{\text{Бен}} = 4,0 \cdot 10^{-5}$ М на фоні УБС з рН 4,0: (а) – одержаних методом ДІВ за різних значень амплітуди 1 – 10, 2 – 50, 3 – 80, 4 – 100, 5 – 200 мВ і різної тривалості імпульсу 1' – 10, 2' – 20, 3' – 30 і 4' – 45 мс (на вставці); (б) – одержаних методом КХВ за різних значень частоти 1 – 10, 2 – 30, 3 – 40, 4 – 50, 5 – 70 Гц і амплітуди 1' – 10, 2' – 30, 3' – 50, 4' – 80, 5' – 100 мВ (на вставці).

Окремий підрозділ роботи присвячено дослідженню можливості використання для визначення Бен графітового електрода, модифікованого композитами поліанілін – багатошарові вуглецеві нанотрубки (пАН-ВНТ), пАН-ВНТ-Pt, а також графітового електрода, покритого платиновою чернню і плівкою співполімеру поліаніліну з Бен (Pt-пАН-Бен). Найпридатнішим виявився Pt-пАН-Бен. Однак, виготовлення

модифікованих електродів тривале і затратне, межі лінійного відклику електрода від концентрації Бен порівняно вузькі (від $1,6 \cdot 10^{-4}$ до $1,2 \cdot 10^{-3}$ моль/л), інструментальна чутливість мала, а межа виявлення – велика. Такий робочий електрод можна використовувати для безперервних (потоківих) хроноамперометричних вимірювань під час контролю вмісту Бен у простих однокомпонентних розчинах. Для аналізу складних об'єктів, зокрема, біологічних рідин, модифікований Pt-пАН-Бен електрод не придатний. Тому його далі не досліджували.

У **четвертому розділі** описано діазотування й азосполучення як реакції дериватизації для полярографічного визначення МА. Бен та Нов містять первинну аміногрупу, яку можна діазотувати нітритною кислотою, а утворену діазосіль використати для реакції азосполучення. Умови діазотування Бен та Нов такі: 0,01 М HCl, 0,001 М NaNO₂. Полярографічні характеристики відновлення діазосолей Бен та Нов мало залежать від тривалості діазотування, а реакція діазотування відбувається як за низьких температур, так і за кімнатної температури (18-20 °C). Для обох АН простежується один пік відновлення діазосолей за потенціалу приблизно -0,2 В (рис. 6). Природа струму відновлення діазосолей адсорбційна. Анодних піків не простежується, що свідчить про повністю необоротний процес.

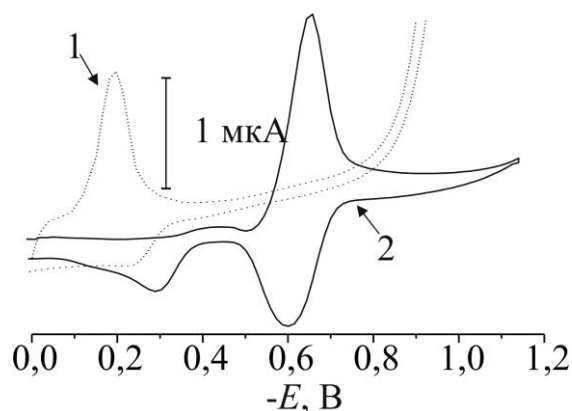


Рис. 6. Полярограми у розчинах діазосолей Бен (1), рН = 3,0 і продукту її азосполучення з резорцином (2) рН = 8,0, $C_{\text{Бен}} = 5,0 \cdot 10^{-5}$ М.

Струм відновлення діазосолей Бен та Нов лінійно залежить від концентрації АН в межах від $4,0 \cdot 10^{-6}$ до $4,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л з коефіцієнтом кореляції, який прямує до одиниці. Це дає змогу використовувати залежність I , мкА від $C_{\text{АН}}$, моль/л для кількісного визначення АН. Межа визначення Бен становить $5,3 \cdot 10^{-6}$ моль/л, а Нов – $5,5 \cdot 10^{-6}$ моль/л.

Одержані діазосолей Бен та Нов вступають у реакції азосполучення з β -нафтолом, саліциловою кислотою і резорцином, однак продукти азосполучення з β -нафтолом і саліциловою кислотою малорозчинні у воді, тому результати визначення Бен та Нов за такими похідними є погано повторювані.

Продукти азосполучення діазосолей Бен та Нов з резорцином (жовто-оранжевого кольору) добре розчинні у воді, реакція протікає швидко. Достатнім часом для азосполучення є 5 хв.

Струм відновлення азосполук Бен та Нов з резорцином лінійно залежить від концентрації АН з коефіцієнтом кореляції, який прямує до 1. Це дає змогу використовувати залежність I , мкА від C , моль/л для кількісного визначення АН. Межа визначення становить $8,5 \cdot 10^{-7}$ моль/л для Бен і $2,8 \cdot 10^{-6}$ моль/л для Нов.

З літератури відомо, що Лд гідролізує під час нагрівання в сильно кислому чи сильно лужному середовищі з утворенням 2,6-диметиланіліну, який можна діазотувати нітритною кислотою. Утворену діазосіль надалі використовують для реакції азосполучення з β -нафтолом для якісної ідентифікації субстанції Лд (за ДФУ). Однак, під час полярографічного визначення Лд за його діазосіллю межі лінійної залежності I від $C_{\text{Лд}}$ не охоплюють навіть одного порядку, межа кількісного

визначення доволі велика ($2,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л), а сама методика дериватизації Лд складна і тривала. Тому полярографічне визначення Лд з такою дериватизацією не має ніяких переваг перед іншими відомими методиками, її використання недоцільне.

У табл. 2 на прикладі Бен наведено коротку порівняльну характеристику полярографічного визначення АН з використання дериватизації за діазотуванням, азосполученням і окисненням Оксоном. Під час дериватизації за азосполученням одержано найменші значення межі визначення і виявлення, однак така дериватизація найтриваліша і потребує найбільше реагентів. Отже, за економічною ефективністю (тривалість аналізу, кількість використаних реактивів) процедури визначення Бен та Нов кращі з використанням реакції окиснення.

Таблиця 2. Порівняння умов дериватизації і деяких метрологічних характеристик відновлення дериватів (на прикладі Бен)

Характеристики дериватизації	Діазотування	Азосполучення	Окиснення Оксоном
Тривалість стадії дериватизації, хв	10	25	15
Необхідні реактиви	0,01 М НСІ, 0,001 М NaNO ₂ , УБС	0,01 М НСІ, 0,001 М NaNO ₂ , УБС, 0,1 М сечовина, 0,001 М резорцин	УБС 2,5 М Н ₃ РO ₄ , 0,01 М КНSO ₅
Межі лінійності, моль/л	$4,0 \cdot 10^{-6} - 4,0 \cdot 10^{-5}$	$8 \cdot 10^{-7} - 2 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-6} - 5 \cdot 10^{-5}$
LOQ, моль/л	$5,3 \cdot 10^{-6}$	$8,5 \cdot 10^{-7}$	$1,8 \cdot 10^{-6}$
LOD, моль/л	$1,6 \cdot 10^{-6}$	$2,6 \cdot 10^{-7}$	$5,6 \cdot 10^{-7}$

У п'ятому розділі висвітлено застосування розроблених методик визначення МА в аналізі об'єктів різної природи. Складність аналізу ЛЗ та біологічних рідин залежить від кількості компонентів та їхньої хімічної природи. Вплив речовин, які можуть бути наявні у ЛЗ і потенційно заважати визначенню МА (наприклад, сахароза, трилон Б, (CH₃)₂SO, ПЕГ, ментол, хлоргексидин) або в біологічних зразках (CO(NH₂)₂, Cl⁻, Ca²⁺ тощо), досліджували за допомогою розроблених процедур в оптимальних експериментальних умовах. Максимально допустимою концентрацією потенційного впливового агента для біологічних рідин вважали таку, яка може спричинювати відносну похибку визначення АН до 10 %. Для ЛЗ використовували межу допуску, зазначену у відповідній нормативній документації (НД) на ці ЛЗ.

Визначенню АН у формі їхніх N-оксидів не заважають більшість неорганічних іонів у концентраціях більших, ніж вони можуть бути наявні в ліках чи біологічних рідинах, CO(NH₂)₂, сахароза. За наявності співмірних з кількістю АН деяких органічних речовин (трилону Б, ментолу, хлоргексидину) струм відновлення N-оксидів зменшується, оскільки КПМС взаємодіє з цими сторонніми речовинами, тобто окисник вступає в конкуруючу реакцію. Цей негативний ефект можна зменшити, збільшуючи кількість окисника. На аналітичний сигнал також суттєво впливають поліетиленгліколи (ПЕГ 400, ПЕГ 1500), які є основою мазей і гелів.

ПЕГ – поверхнево-активні речовини, які адсорбуються на поверхні р.к.е., тому перешкоджають відновленню. У такому разі доцільніше відокремити АН від матриці. Зокрема, тримекан з мазі “Левосин”, вилучали екстракцією гексаном (рис. 7). Уміст Тр визначали способом стандартних добавок, добавки стандартного розчину (РСЗ) Тр вводили мірною піпеткою до точної наважки мазі. Малорозчинні допоміжні речовини ЛЗ, зокрема, таблеток, відокремлювали фільтруванням.

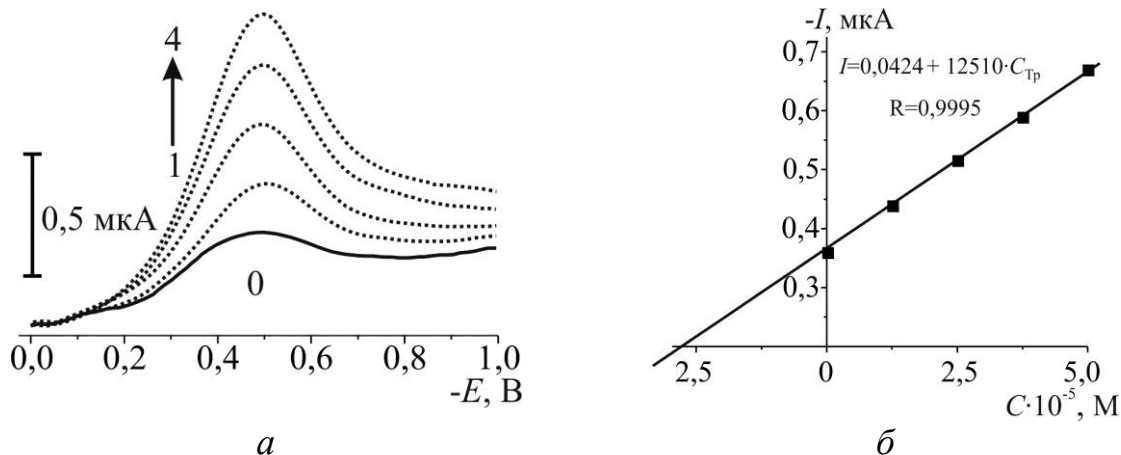


Рис. 7. Полярограми (а) і градувальний графік (б), одержані під час полярографічного аналізу мазі “Левосин”: 0 – проба “Левосин” без стандартної добавки Тр, 1-4 – проби “Левосин” з добавками РСЗ Тр.

На підставі одержаних результатів нами розроблено методики полярографічного визначення АН з дериватизацією з використанням Оксону у розчинах для ін'єкцій лідокаїну гідрохлориду, новокаїну і “Mepivastesin”, вушних краплях “Отіпакс”, льодяниках від болю у горлі “Стрепсілс Плюс”, антисептичних препаратів для розсмоктування при інфекційно-запальних захворюваннях горла і ротової порожнини “Фарисіл” (таблетки) і “Септолете Плюс” (пастилки), мазі “Левосин”.

Результати аналізу (табл. 3.) порівнювали з результатами випробувальних лабораторій Державної адміністрації України з лікарських засобів, які було зазначено у сертифікатах. Значення сертифікату використали як дійсне значення вмісту АН: $Z = \frac{C_{\text{експ}}}{C_{\text{дійсн}}} \cdot 100 \%$. Визначені нами значення Z коливаються від 95,2 до

105,3 % і свідчать про коректність запропонованих методик, результати аналізу не обтяжені матричними ефектами.

Дериватизацію з Оксоном використали також для розроблення методики визначення Лд в слині. Перевагою застосування аналізу слини є можливість швидкого і неінвазивного відбору проби. Полярографічному визначенню Лд особливо заважають наявні у слині білки. Ми перевірили різні підходи для підготовки проби слини. Кращим виявилось осадження матриці сумішшю 20 % сульфосаліцилової кислоти з насиченим розчином амоній сульфату.

Таблиця 3. Результати полярографічного визначення АН у ЛЗ з дериватизацією з використанням Оксону

Аналіт	Об'єкт аналізу	Вимога НД (розмірність)	Зазначено в сертифікаті	Результати визначення
Лд	Лідокаїн Дарниця®	19-21 (мг/мл)	—	$19,5 \pm 0,5$
	Лідокаїн гідрохлорид (“Артеріум”)		20,2	$19,71 \pm 0,20$
	“Отипакс”	0,95-1,05 (г/100 г)	0,99	$1,00 \pm 0,06$
	“Стрепсілс Плюс”	9,0-11,0 (мг/льодяник)	9,9	$11,0 \pm 2,0$
Тр	“Левосин”	2,7-3,3 (г/100 г)	2,9	$2,76 \pm 0,12$
Меп	“Mepivastesin”	28,5-31,5 (мг/мл)	—	$29,5 \pm 0,5$
Бен	“Фарисіл”	4,75-5,25 (мг/пастилку)	5,23	$5,0 \pm 0,3$
	“Септолете Плюс”	4,50-5,50 (мг/пастилку)	4,85	$5,11 \pm 0,23$
Нов	“Артеріум”	4,75-5,25 (мг/мл)	4,97	$4,9 \pm 0,4$

На рис. 8 зображено циклічні полярограми у підготовлених розчинах слини за відсутності та за наявності Лд, а також градувальний графік. Нижня межа виявлення та межа кількісного визначення Лд у слині становлять $1,5 \cdot 10^{-6}$ та $5,2 \cdot 10^{-6}$ моль/л, відповідно, і практично збігаються із значенням цих величин для градувального графіка для водних стандартних розчинів (табл. 1).

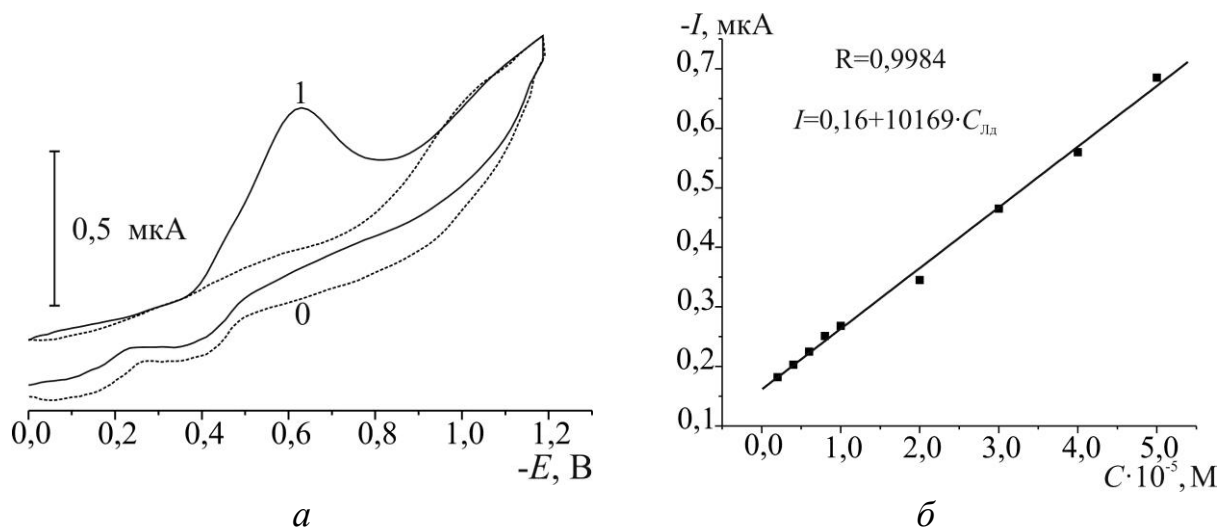


Рис. 8. Полярограми (а) у підготовлених розчинах слини без додавання Лд (крива 0) і з добавкою $5,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л Лд у кінцевому об'ємі (крива 1), а також градувальний графік (б) полярографічного визначення Лд, одержаний способом введення аліквот РСЗ Лд у пробу слини.

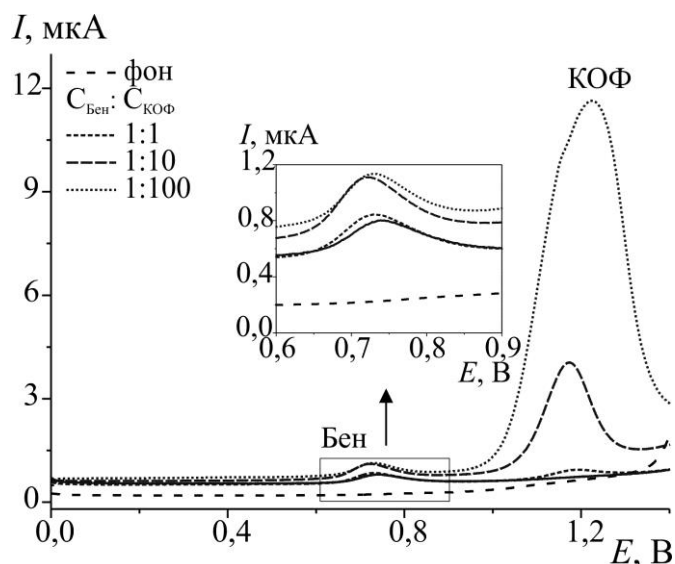


Рис. 9. Вигляд анодних вольтамперограм АДБЕ у розчині Бен (метод ДІВ) з $C_{\text{Бен}} = 8,0 \cdot 10^{-6}$ М на фоні УБС з рН 4,0 за наявності кофеїну (КОФ)

розчином Бен. Тому вміст Бен визначали методом добавок.

Таблиця 4. Результати вольтамперометричного визначення Бен у ЛЗ за струмом окиснення на АДБЕ

Об'єкт аналізу	Вимога НД мг/таблетку; мг/пастилку; мг/25 мл розчину	Результати визначення, мг/таблетку; мг/пастилку; мг/25 мл розчину		$Z = \frac{C_{\text{експ}}}{C_{\text{дійсн}}} \cdot 100 \%$	
		ДІВ	КХВ	ДІВ	КХВ
“Доритрицин”	1,5	$1,51 \pm 0,09$	$1,54 \pm 0,15$	101,0	102,7
“Септолете Плюс”	4,50-5,50	$4,87 \pm 0,30$	$4,8 \pm 0,7$	97,4	97,0
“Herbadent”	62,5	$65,3 \pm 3,7$	$62,9 \pm 2,0$	104,5	100,6

Однак сечова кислота й аскорбінова кислота впливають на аналітичний сигнал Бен уже в еквімолярних кількостях: пік окиснення Бен перекривається з піком окиснення кислот. Аналогічно впливають фолієва кислота і допамін – за 10-кратного надлишку. Ці речовини окиснюються на АДБЕ за потенціалів, близьких до потенціалу окиснення Бен, піки окиснення перекриваються, тому результати вимірювання струму окиснення Бен є завищеними на 15-20 %. Цю проблему можна вирішити, використовуючи відокремлення Бен екстракцією та/або ВЕРХ з електрохімічним детектуванням з АДБЕ. Під час аналізу модельних зразків сечі для надійного визначення Бен зразки розбавляли у 10 разів фоновим електролітом. Цей крок усунув вплив сечової кислоти на аналітичний сигнал Бен: потенціал розкладання, який залежить від концентрації деполяризатора, збільшується зі зменшенням концентрації сечової кислоти, тому піки окиснення сечової кислоти звужуються і не перекриваються з піками окиснення Бен. На вольтамперограмі розбавленого зразка сечі нема ніяких значних піків (крива «0» на рис. 10). Межа

Особливо високі метрологічні характеристики отримано для методики визначення Бен за струмом окиснення на АДБЕ. На струм і потенціал окиснення Бен суттєво не впливають 100-кратний надлишок ібупрофену та кофеїну, оскільки ці речовини окиснюються на АДБЕ за значно позитивніших потенціалів (рис. 9). Не впливає також 100-кратний надлишок глюкози.

Методику апробовано під час аналізу комбінованих ЛЗ таблеток “Доритрицин”, пастилок “Септолете Плюс” та розчину на основі екстрактів лікарських трав від запальних захворювань ротової порожнини “Herbadent” (табл. 4). Складна матриця цих ЛЗ може впливати на аналітичний сигнал Бен порівняно зі стандартним водним

виявлення розробленої методика визначення Бен у сечі за окисненням на АДБЕ становить $0,3 \cdot 10^{-6}$ моль/л, а межа визначення – $1,0 \cdot 10^{-6}$ моль/л.

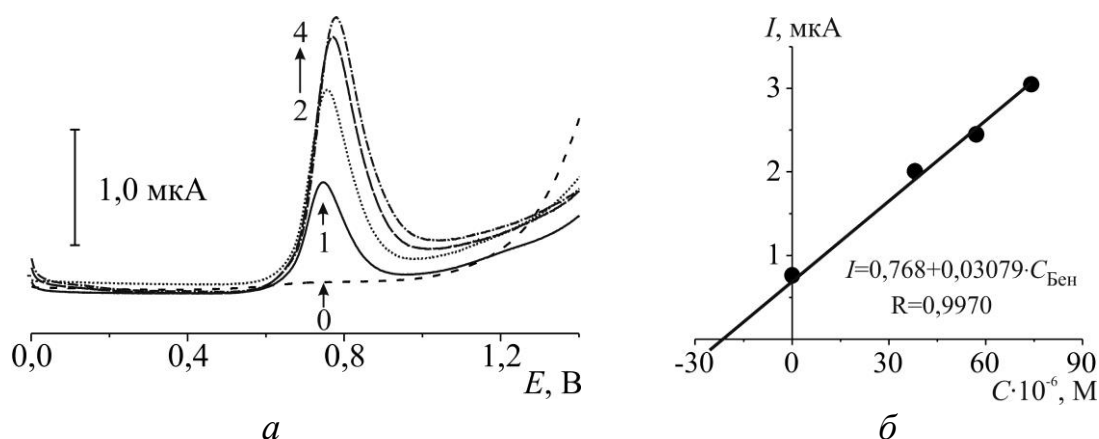


Рис. 10. Вигляд анодних вольтамперограм (метод ДІВ) (а) та градувальний графік (б), одержані під час аналізу модельного зразка сечі: 0 – проба сечі без добавки Бен, 1 – модельний розчин сечі, який містить $2,0 \cdot 10^{-6}$ моль/л Бен; 2-4 – модельні розчини сечі з добавками стандартного розчину Бен.

Визначенню Бен та Нов у формі їхніх діазосолей не заважають більшість неорганічних іонів, які можуть бути наявні у ліках чи біологічних рідинах, сахароза заважає незначно. Негативний ефект багатьох речовин, які виявляють відновні властивості, можна зменшити, збільшуючи кількість NaNO_2 . На аналітичний сигнал реакції азосполучення впливають ті компоненти ЛЗ, які можуть сполучатися з діазосолями Бен та Нов, зокрема, саліцилова кислота, глюкоза. Методики апробовано під час аналізу розчину новокаїну для ін'єкцій корпорації “Артеріум” ПАТ “Галичфарм” та таблеток “Фарисіл” (табл. 5).

Таблиця 5. Результати полярографічного визначення Нов і Бен у ЛЗ з дериватизацією за утворенням діазо- й азосполук

Аналіт	Об'єкт аналізу	Вимога НД	Зазначено в сертифікаті	Результати визначення	
				методом град. графіка	методом добавок
Нов	розчин для ін'єкцій “Артеріум”	19-21 (мг/мл)	19,8	за утворенням діазосполук	
				$19,69 \pm 0,19$	$19,7 \pm 0,9$
				за утворенням азосполук	
				$19,6 \pm 0,5$	$18,9 \pm 0,7$
Бен	“Фарисіл”	4,75-5,25 (мг/пастилку)	5,23	за утворенням діазосполук	
				$4,96 \pm 0,15$	$4,98 \pm 0,23$
				за утворенням азосполук	
				$5,16 \pm 0,29$	$4,9 \pm 0,7$

Поєднання двох чи більше МА в одному ЛЗ здебільшого не використовують. Однак спиртовий розчин для зовнішнього застосування “Меновазин” містить одночасно Нов та Бен. Роздільне полярографічне визначення Бен та Нов у їхній

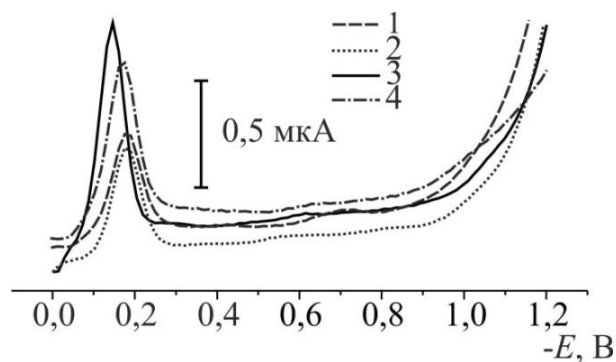


Рис. 11. Полярограми у розчинах діазосолі Бен (1), діазосолі Нов (2), суміші діазосолей Бен і Нов (3), $C_{\text{Бен}} = C_{\text{Нов}} = 2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, а також у розчині “Меновазин” (4).

отримано у разі використання реакцій діазотування. Переведення в азосполуки потребує більше затрат реактивів і є тривалим в часі. Як наслідок, погіршується повторюваність визначення АН, і розширюється надійний інтервал.

Методики полярографічного визначення Лд і Меп у розчинах для ін'єкцій з дериватизацією з використанням Оксону валідували згідно з ДФУ. Обчислили такі валідаційні характеристики: невизначеність пробопідготовки Δ_{SP} , невизначеність кінцевої аналітичної операції Δ_{FAO} і повну невизначеність результатів аналізу Δ_{AS} , робасність (чинники: рН полярографованого розчину, тривалість окиснення, температура окиснення, стабільність полярографованого розчину у часі), лінійність, правильність, прецизійність і внутрішньолaboratorну прецизійність SD_z і Δ_{intra} . Розроблені методики відповідають вимогам валідаційних критеріїв, коректні і придатні для кількісного визначення гідрохлоридів Лд чи Меп у розчинах для ін'єкцій.

Аналітичні характеристики розроблених методик порівнювали з характеристиками методик, відомих у літературі. Метрологічні характеристики нових методик не поступаються стандартним методикам, а за своїми межами визначення та селективністю переважають титриметричні і спектрофотометричні методики визначення АН. Також нові методики є простішими, експреснішими й економічно вигіднішими, ніж хроматографічні. Межа виявлення Бен для методики з АДБЕ є співмірною з межами виявлення деяких хроматографічних методик.

Таким чином, ця робота розширює можливості вибору методики серед доступних для визначення АН у реальних об'єктах, зокрема, у ЛЗ.

У **додатках** подано коротку характеристику методик вольтамперометричного визначення АН, відомих з літератури, характеристику використаних у роботі ЛЗ як об'єктів аналізу та акти впровадження розроблених методик.

суміші у формі діазо- чи азосполук неможливе, оскільки потенціали піків відновлення цих дериватів дуже близькі, і піки накладаються. Визначати можна сумарну кількість МА за сумуванням висот чи площ піків діазосолей чи азосполук Бен та Нов (рис. 11), за допомогою градуального графіка або методом добавок. Використання полярографічної методики визначення МА спрощує аналіз комбінованих лікарських засобів та дає можливість визначати сумарні концентрації компонентів, що є перевагою поряд з відомими методами визначення АН.

Проте меншу похибку визначення МА було

ВИСНОВКИ

Для розроблення вольтамперометричних методик визначення анестетиків потрібна попередня дериватизація, оскільки АН не перетворюються в умовах вольтамперометрії на немодифікованих ртутному, платиновому, графітовому чи скловуглецевому електродах. У роботі опрацьовано декілька підходів для отримання аналітичних форм для вольтамперометрії шести АН (лідокаїну, тримекаїну, мепівакаїну, бупівакаїну, новокаїну і бензокаїну).

1. Спільною і придатною для дериватизації є амідна група АН, яка легко окиснюється до відповідного N-оксиду кислотою Каро, калій пероксимоносульфатом (комерційний Оксон), пероксифталевою і метаклоропероксибензеновою кислотами. Показано, що метрологічні характеристики полярографічного визначення АН у формі N-оксиду з використанням усіх досліджених окисників є приблизно однаковими. Однак для дериватизації доцільніше використовувати калій пероксимоносульфат, що науково обґрунтовано.
2. Уніфіковано просту процедуру одержання N-оксидів лідокаїну, тримекаїну, мепівакаїну, бупівакаїну за допомогою калій пероксимоносульфату. N-оксиди необоротно відновлюються на р.к.е. у межах рН 2 – 8 за участю одного електрона і одного протона з утворенням одного піка на полярограмі в межах потенціалів від -0,3 до -0,6 В (залежно від АН і від рН). Струм піку відновлення цих N-оксидів досягає максимального значення в кислому середовищі (в межах рН 3 – 5).
3. Вперше для дериватизації бензокаїну і новокаїну використано реакцію окиснення калій пероксимоносульфатом. Показано, що ці АН окиснюються КПМС за первинною аміногрупою. Продукти окиснення необоротно відновлюються на р.к.е. у межах рН 2 – 9 з утворенням від одного до чотирьох піків на полярограмі (залежно від рН) за участю чотирьох електронів і трьох протонів за рН 4,0.
4. Вперше для вольтамперометричного визначення бензокаїну використали мініатюрний товстоплівковий алмазний електрод, допований бором. Бензокаїн необоротно окиснюється на цьому електроді в межах рН 2 – 12 за участю двох електронів і одного протона з утворенням одного піка на вольтамперограмі в межах потенціалів від +1,0 до +0,8 В (залежно від рН).
5. Вперше для полярографічного визначення бензокаїну та новокаїну використано їхні діазосолі, які легко одержати. Полярографічні характеристики відновлення діазосолей бензокаїну та новокаїну мало залежать від тривалості діазотування, а реакція діазотування відбувається як за низьких температур, так і за кімнатної температури (18-20 °С). Одержані діазосолі вступають у реакції азосполучення. Продукти азосполучення також є придатними для полярографічного визначення бензокаїну та новокаїну.
6. Вперше для вольтамперометричного визначення бензокаїну опрацьовано модифікування графітового електрода композитами на основі електропровідного полімеру поліаніліну. Електрод, покритий платиновою черню і плівкою співполімеру поліаніліну з Бен (Pt-пАН-Бен), можна було б

використовувати для безперервних (потоківих) хроноамперометричних вимірювань у простих однокомпонентних розчинах під час контролю вмісту Бен у межах від $1,6 \cdot 10^{-4}$ до $1,2 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

7. На підставі одержаних результатів розроблено нові методики вольтамперометричного визначення МА у складних лікарських засобах і модельних зразках слини і сечі людини. Для нових методик характерні широкі межі лінійності (1,5-2 порядки), низька межа визначення (на рівні 10^{-6} моль/л для методу з лінійною швидкою розгорткою і 10^{-7} моль/л для диференційно-імпульсної і квадратно-хвильової вольтамперометрії), достатня точність і селективність. Метрологічні характеристики полярографічного визначення бензокаїну і новокаїну з дериватизацією за реакціями діазотування й азосполучення є високими, однак економічні характеристики визначення цих АН ліпші з використанням реакції окиснення.
8. Нові методики перевірено під час аналізу однокомпонентних розчинів для ін'єкцій, комбінованих лікарських засобів спиртового розчину "Меновазин", вушних крапель "Отипакс", таблеток "Фарисіл" і "Доритрицин", льодяників "Септолете Плюс" і "Стрепсілс Плюс", мазі "Левосин", розчину для ясен "Herbadent". Метрологічні характеристики нових методик не поступаються стандартним методикам, межа визначення та селективність переважає ці параметри для існуючих титриметричних методик визначення АН, також нові методики є експреснішими й економічно вигіднішими, ніж хроматографічні.
9. Окремі методики валідовано згідно з ДФУ. Результати валідаційного оцінювання підтвердили коректність напрацьованих методик. Методику полярографічного визначення Бен з дериватизацією за реакцією окиснення калій пероксимоносульфатом (у таблетках від болю горла "Фарисіл") впроваджено у лабораторний практикум дисципліни за вибором студента "Аналіз лікарських засобів" для студентів освітнього рівня "магістр" хімічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка. Методику полярографічного визначення лідокаїну, бензокаїну, новокаїну з дериватизацією за реакцією окиснення калій пероксимоносульфатом (у розчинах для ін'єкцій) впроваджено у практику ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Праці, в яких опубліковано основні результати дисертації:

1. **Plotyca S.** Determination of local anesthetics of amide group in pharmaceutical preparations by cyclic voltammetry / **S. Plotyca**, L. Dubenska, M. Blazheyevskiy, S. Pysarevska, O. Sarahman // *Electroanalysis*. – 2016. – V. 28, No. 10. – P. 2575-2581. DOI: 10.1002/elan.201600134. *Особистий внесок здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, опрацюванні одержаних результатів, участі в обговоренні і підготовці статті до друку.*
2. **Плотиця С.** Валідація методики полярографічного визначення лідокаїну в розчинах для ін'єкцій / **С. Плотиця**, Л. Дубенська, М. Блажеєвський, О. Сарахман // *Вісн. Львів. ун-ту. Серія хім.* – 2016. – Вип. 57, Ч. 1. – С. 203-211. *Особистий внесок здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, опрацюванні одержаних результатів, участі в обговоренні і підготовці статті.*
3. Дубенська Л. Порівняння окисників як реагентів для полярографічного визначення лідокаїну / Л. Дубенська, **С. Плотиця**, М. Блажеєвський, В. Демелько // *Вісн. Львів. ун-ту. Серія хім.* – 2017. – Вип. 58, Ч. 1. – С. 231-238. *Особистий внесок здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, опрацюванні одержаних результатів, участі в обговоренні і підготовці статті до друку.*
4. Дубенська Л.О. Метод вольтамперометрії для визначення лікарських речовин / Л.О. Дубенська, **С.І. Плотиця**, М.Є. Блажеєвський, М.Я. Пилипець, О.М. Сарахман // *Methods and objects of chemical analysis*. – 2017. – Т. 12, № 2. – С. 61-75. DOI: 10.17721/moca.2017.61-75. *Особистий внесок здобувача у цю оглядову статтю полягає у пошуку літературних джерел, їхньому опрацюванні і систематизації.*
5. Pysarevska S. A state-of-the-art approach for facile and reliable determination of benzocaine in pharmaceuticals and biological samples based on the use of miniaturized boron-doped diamond electrochemical sensor / S. Pysarevska, L. Dubenska, **S. Plotyca**, L. Svorc // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2018. – Vol. 270. – P. 9-17. DOI: 10.1016/j.snb.2018.05.012. *Особистий внесок здобувача полягає в участі в опрацюванні одержаних експериментальних результатів, в обговоренні і підготовці статті до друку.*
6. **Plotyca S.** A new approach for the determination of benzocaine and procaine in pharmaceuticals by single-sweep polarography / **S. Plotyca**, O. Strontsitska, S. Pysarevska, M. Blazheyevskiy, L. Dubenska // *International Journal of Electrochemistry*, Hindawi Publishing Corporation. – 2018. – Vol. 2018. – Article ID 1376231 – 10 p. DOI: 10.1155/2018/1376231 (Web of Science). *Особистий внесок здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, опрацюванні одержаних результатів, участі в обговоренні і підготовці статті до друку.*
7. Dubenska L. Diazotation and azo coupling as the derivatization reactions for polarographic determination of some local anesthetics / L. Dubenska, **S. Plotyca**, M. Pylypets, S. Pysarevska // *Voprosy khimii i khimicheskoi tehnologii*. – 2018. – No 5. – P. 12-22. *Особистий внесок здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, опрацюванні одержаних результатів, участі в обговоренні і підготовці статті до друку.*

8. **Плотиця С.** Про механізм відновлення на р.к.е. N-оксидів деяких анестезуючих речовин місцевої дії з третинним аміном / **С. Плотиця**, С. Писаревська, О. Душна, Л. Дубенська // Вісн. Львів. ун-ту. Серія хім. – 2019. – Вип. 60, Ч. 1. – С. 191-199. *Особистий внесок здобувача полягає в участі у виконанні експериментальних досліджень, опрацюванні і обговоренні одержаних результатів.*

9. Pysarevska S. Voltammetry of local anesthetics: theoretical and practical aspects / S. Pysarevska, **S. Plotycya**, L. Dubenska // Critical Reviews in Analytical Chemistry. – 2020. – P. 1-14. DOI: 10.1080/10408347.2020.1729691. *Особистий внесок здобувача у цю оглядову статтю полягає в участі у пошуку літературних джерел, їхньому опрацюванні і систематизації, формулюванні висновків.*

Праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

10. **Плотиця С.І.** Полярографічне визначення лідокаїну з використанням пероксомоносульфату / **С.І. Плотиця**, Л.О. Дубенська, М.Є. Блажеєвський // Тези доповідей “Київської конференції з аналітичної хімії. Сучасні тенденції”, присвяченої 100-річчю від дня народження академіка А.Т. Пилипенка. Київ, 9-12 червня 2014 р. – Київ, 2014. – С. 148. *Особистий внесок здобувача полягає у виконанні експерименту, опрацюванні одержаних результатів, участі в обговоренні і підготовці тез.*

11. **Плотиця С.** Використання пероксомоносульфату для полярографічного визначення тримекаїну / **С. Плотиця**, Л. Дубенська, М. Блажеєвський // Тези доповідей IV Науково-практичного семінару студентів, аспірантів і молодих учених “Прикладні аспекти електрохімічного аналізу”. Львів, 16-17 жовтня 2014 р. – Львів, 2014. – С. 21. *Особистий внесок здобувача полягає у виконанні експерименту, опрацюванні одержаних результатів, участі в обговоренні і підготовці тез.*

12. **Плотиця С.** N-оксидування місцевих анестетиків як дериватизація для їхнього полярографічного визначення / **С. Плотиця**, Л. Дубенська, М. Блажеєвський, О. Сарахман // Тези доповідей XV Наукової конференції “Львівські хімічні читання – 2015”. Львів, 24-27 травня 2015 р. – Львів, 2015. – С. 48-У38. *Особистий внесок здобувача полягає у виконанні експерименту, опрацюванні одержаних результатів, участі в обговоренні і підготовці тез.*

13. **Плотиця С.І.** Полярографічне визначення деяких місцевих анестетиків з використанням пероксомоносульфату / **С.І. Плотиця**, Л.О. Дубенська, М.Є. Блажеєвський // Тези доповідей “Київської конференції з аналітичної хімії. Сучасні тенденції”, присвяченої 110-річчю від дня народження академіка А.К. Бабка. Київ, 7-9 жовтня 2015 р. – Київ, 2015. – С. 136. *Особистий внесок здобувача полягає у виконанні експерименту, опрацюванні одержаних результатів, участі в обговоренні і підготовці тез.*

14. Dubenska L.O. Determination of lidocaine and its metabolite in saliva / L.O. Dubenska, **S.I. Plotycya**, M.Ye. Blazheyevskiy, O.M. Sarahman // XV Ukrainian-Polish symposium “Theoretical and experimental studies of interfacial phenomena and their technological application”, Lviv, September 12-15, 2016. – Lviv, 2016. – P.30.

Особистий внесок здобувача полягає у виконанні експерименту, опрацюванні одержаних результатів, участі в обговоренні і підготовці тез.

15. **Плотиця С.І.** Діазотування і азосполучення для полярографічного визначення місцевих анестетиків / **С.І. Плотиця**, М.Я. Пилипець, Л.О. Дубенська, М.Є. Блажеєвський // Тези доповідей V Науково-практичного семінару студентів, аспірантів і молодих учених “Прикладні аспекти електрохімічного аналізу”. Львів, 6-8 жовтня 2016 р. – Львів, 2016. – С. 30. *Особистий внесок здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, опрацюванні одержаних результатів, участі в обговоренні і підготовці тез.*

16. **Плотиця С.І.** Порівняння способів дериватизації новокаїну для його полярографічного визначення / **С.І. Плотиця**, М.Я. Пилипець, О.А. Стронціцька, Л.О. Дубенська, М.Є. Блажеєвський // Тези доповідей “Київської конференції з аналітичної хімії. Сучасні тенденції”. Київ, 18-22 жовтня 2016 р. – Київ, 2016. – С. 128. *Особистий внесок здобувача полягає в участі у проведенні експериментальних досліджень, опрацюванні одержаних результатів, в обговоренні і підготовці тез.*

17. Плотнікова К.М. Спосіб полярографічного визначення місцевого анестетика бупівакаїну / К.М. Плотнікова, О.М. Сарахман, **С.І. Плотиця**, Л.О. Дубенська // Тези доповідей X Української наукової конференції студентів, аспірантів і молодих учених з міжнародною участю “Хімічні проблеми сьогодення”. Вінниця, 27-29 березня 2017 р. – Вінниця, 2017. – С. 33. *Особистий внесок здобувача полягає в участі у проведенні експериментальних досліджень, опрацюванні одержаних результатів, в обговоренні і підготовці тез.*

18. Плотнікова К.М. Використання пероксикислот для полярографічного визначення місцевих анестетиків групи амідів / К.М. Плотнікова, О.М. Сарахман, **С.І. Плотиця**, Л.О. Дубенська // Тези доповідей XVIII міжнародної конференції студентів та аспірантів “Сучасні проблеми хімії”. Київ, 17-19 травня 2017 р. – Київ, 2017. – С. 173. *Особистий внесок здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, опрацюванні одержаних результатів, участі в обговоренні і підготовці тез.*

19. Стронціцька О. N-оксидування новокаїну для його полярографічного визначення / О. Стронціцька, **С. Плотиця**, Л. Дубенська // Матеріали XVI наукової конференції “Львівські хімічні читання – 2017”. Львів, 28-31 травня 2017 р. – Львів, 2017 – А.26. *Особистий внесок здобувача полягає в участі у проведенні експериментальних досліджень, опрацюванні одержаних результатів, в обговоренні і підготовці тез.*

20. Стронціцька О.А. Спосіб полярографічного визначення анестезину / О.А. Стронціцька, **С.І. Плотиця**, Л.О. Дубенська // Тези доповідей “Київської конференції з аналітичної хімії. Сучасні тенденції”. Київ, 18-21 жовтня 2017 р. – Київ, 2017 – С. 160. *Особистий внесок здобувача полягає в участі у проведенні експериментальних досліджень, опрацюванні одержаних результатів, в обговоренні і підготовці тез.*

21. Писаревська С. Вольтамперометричне визначення деяких місцевих анестетиків як альтернатива традиційним методам їхнього аналізу / С. Писаревська, Л. Дубенська, О. Стронціцька, **С. Плотиця**, Л. Шворц // VIII Український з'їзд з

електрохімії та VI Науково-практичний семінар студентів, аспірантів і молодих вчених “Прикладні аспекти електрохімічного аналізу”, присвячений 100-річчю Національної академії наук України. Тези доповідей. Львів, 4-7 червня 2018 р. – Львів, 2018. – С. 66-68. *Особистий внесок здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, опрацюванні одержаних результатів, участі в обговоренні і підготовці тез.*

22. **Плотиця С.І.** Вольтамперометричне визначення анестетиків групи амідів з попередньою дериватизацією / **С.І. Плотиця**, Л.О. Дубенська // Тези доповідей “Київської конференції з аналітичної хімії. Сучасні тенденції”. Київ, 17-20 жовтня 2018 р. – Київ, 2018 – С. 42-43. *Особистий внесок здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, опрацюванні одержаних результатів, участі в обговоренні і підготовці тез.*

23. **Плотиця С.** Підходи до вольтамперометричного визначення місцевих анестетиків / **С. Плотиця**, Л. Дубенська // Тези доповідей Всеукраїнської наукової конференції з міжнародною участю “Аналітична хімія – методи та інструменти”. Ужгород, 15-17 травня 2019 р. – Ужгород, 2019 – С. 17. *Особистий внесок здобувача полягає у проведенні експериментальних досліджень, опрацюванні одержаних результатів, участі в обговоренні і підготовці тез.*

АНОТАЦІЯ

Плотиця С.І. Вольтамперометричне визначення місцевих анестетиків групи амідів з попередньою дериватизацією. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.02 – аналітична хімія. – Львівський національний університет імені Івана Франка. – ДВНЗ «Ужгородський національний університет», м. Ужгород, 2020.

Дисертаційну роботу присвячено вивченню особливостей вольтамперометричного визначення шести місцевих анестетиків лідокаїну, тримекаїну, мепівакаїну, бупівакаїну, новокаїну і бензокаїну з використанням різних робочих електродів. Розглянуто різні підходи до дериватизації анестетиків. Спільною і придатною для дериватизації є амідна група анестетиків, яка легко окиснюється пероксикислотами до відповідного N-оксиду, а також первинна аміногрупа новокаїну й бензокаїну, придатна до окиснення (хімічного й електрохімічного) і до діазотування. Одержані діазосоли новокаїну й бензокаїну вступають у реакції азосполучення. Відповідні продукти окиснення анестетиків, а також діазо- й азопохідні бензокаїну й новокаїну легко електрохімічно відновлюються на ртутному краплинному електроді. Вперше для вольтамперометричного визначення бензокаїну використали мініатюрний товстоплівковий алмазний електрод, допований бором. Бензокаїн необоротно окиснюється на цьому електроді з утворенням одного піка на вольтамперограмі в межах потенціалів від +1,0 до +0,8 В, струм лінійно залежить від концентрації бензокаїну в широких межах концентрацій від $1 \cdot 10^{-7}$ до $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Межа визначення бензокаїну за окисненням на алмазному електроді методом диференційної імпульсної вольтамперометрії суттєво менша, ніж для багатьох відомих методик його визначення. У роботі також опрацьовано модифікування графітового електрода композитами на основі поліаніліну, яке не призвело до очікуваних результатів. На підставі напрацьованих результатів розроблено нові методики визначення анестетиків в однокомпонентних розчинах для ін'єкцій, комбінованих лікарських засобах (таблетки, пастилки, льодяники від болю у горлі, розчин на основі екстрактів лікарських трав, мазь) і модельних зразках слини і сечі людини. Новим методикам визначення місцевих анестетиків характерні широкі межі лінійності (1,5-2 порядки), низька межа визначення (на рівні 10^{-7} – 10^{-6} моль/л), достатня точність і селективність. Метрологічні характеристики нових методик не поступаються стандартним методикам, межі визначення та селективність переважають ці параметри для існуючих титриметричних методик визначення, також нові методики є експреснішими й економічно вигіднішими, ніж хроматографічні. Методики полярографічного визначення лідокаїну і мепівакаїну у розчинах для ін'єкцій з дериватизацією з використанням Оксону валідували згідно з ДФУ.

Ключові слова: місцеві анестетики, N-оксид, вольтамперометрія, полярографія, дериватизація, електрохімічне відновлення, електрохімічне окиснення.

АННОТАЦИЯ

Плотица С.И. Вольтамперометрическое определение местных анестетиков группы амидов с предварительной дериватизацией. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.02 – аналитическая химия. – Львовский национальный университет имени Ивана Франко. – Государственное высшее учебное заведение «Ужгородский национальный университет», г. Ужгород, 2020.

Диссертационная работа посвящена изучению особенностей вольтамперометрического определения шести местных анестетиков лидокаина, тримекаина, мепивакаина, бупивакаина, новокаина и бензокаина с использованием различных рабочих электродов. Рассмотрены различные подходы к дериватизации анестетиков. Общей и подходящей для дериватизации является амидная группа анестетиков, которая легко окисляется пероксикислотами до соответствующего N-оксида, а также первичная аминогруппа новокаина и бензокаина, способная к окислению (химическому и электрохимическому) и к диазотированию. Полученные диазосоли новокаина и бензокаина вступают в реакции азосочетания. Соответствующие продукты окисления анестетиков, а также диазо- и азопроизводные бензокаина и новокаина легко электрохимически восстанавливаются на ртутном капельном электроде. Впервые для вольтамперометрического определения бензокаина был использован миниатюрный толстопленочный алмазный электрод, допированный бором. Бензокаин необратимо окисляется на этом электроде с образованием одного пика на вольтамперограмме в пределах потенциалов от +1,0 до +0,8 В, ток линейно зависит от концентрации бензокаина в широких пределах концентраций от $1 \cdot 10^{-7}$ к $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Предел обнаружения бензокаина за его окислением на алмазном электроде методом дифференциальной импульсной вольтамперометрии существенно меньше, чем для многих известных методик его определения. В работе также исследовано модифицирование графитового электрода композитами на основе полианилина, что не привело к ожидаемым результатам. На основании полученных результатов разработаны новые методики определения анестетиков в однокомпонентных растворах для инъекций, комбинированных лекарственных средствах (таблетки, пастилки, леденцы от боли в горле, раствор на основе экстрактов лекарственных трав, мазь) и модельных образцах слюны и мочи человека. Новым методикам определения местных анестетиков свойственны широкие пределы линейности (1,5-2 порядка), низкий предел определения (на уровне $10^{-7} - 10^{-6}$ моль/л), достаточная точность и селективность. Метрологические характеристики новых методик не уступают стандартным методикам, пределы определения и селективность преобладают над этими параметрами для существующих титриметрических методик определения, также новые методики экспресснее и экономически выгоднее, чем хроматографические. Методики полярографического определения лидокаина и мепивакаина в растворах для инъекций с дериватизацией с использованием Оксона валидировано согласно ГФУ.

Ключевые слова: местные анестетики, N-оксид, вольтамперометрия, полярография, дериватизация, электрохимическое восстановление, электрохимическое окисление.

SUMMARY

Plotyca S.I. Voltammetric determination of local anaesthetics of amide group with the preliminary derivatization. – Manuscript.

Thesis for obtaining a scientific degree of a Candidate of Chemical Sciences. Speciality 02.00.02 – Analytical Chemistry. – Ivan Franko National University of Lviv. – State institution of higher education “Uzhgorod National University”, Uzhgorod, 2020.

The thesis deals with the study of the peculiarities of six local anaesthetics voltammetric determination, viz. lidocaine, trimecaine, mepivacaine, bupivacaine, novocaine and benzocaine, by means of different working electrodes. Different approaches to the derivatization of anaesthetics were considered. Amide group is common for anaesthetics and suitable for the derivatization, it is easily oxidized by peroxy acids to the corresponding N-oxide; also primary amino group of novocaine and benzocaine is suitable for the oxidation (chemical and electrochemical) and for the diazotization. Obtained diazo salts of novocaine and benzocaine undergo azo coupling reaction. The corresponding products of anaesthetics oxidation, as well as diazo and azo derivatives of benzocaine and novocaine, are easily electrochemically reduced on a dropping mercury electrode. For the first time, the miniaturized thick-film boron-doped diamond electrode was used for the voltammetric determination of benzocaine. Benzocaine is irreversibly oxidized at this electrode with the occurring of a single peak on the voltammogram in the potential range from +1.0 to +0.8 V; the current linearly depends on the concentration of benzocaine in the wide concentration range, viz. from $1 \cdot 10^{-7}$ to $2 \cdot 10^{-5}$ mol/l. The limit of quantification of benzocaine by its oxidation at a diamond electrode by the method of a differential pulse voltammetry is significantly smaller than for many known methods of its determination. The modification of a graphite electrode with polyaniline-based composites was also studied in this work, but it did not lead to the expected results. Based on the obtained results, the new methods have been developed for the determination of anaesthetics in single-component solutions for injections, complex pharmaceuticals (tablets, pastilles, lozenges for sore throat, solutions based on herbal extracts, ointments) and in model samples of human saliva and urine. The new methods of local anaesthetics determination have wide linearity ranges (1.5-2 concentration orders), low quantification limits (at the level of 10^{-7} – 10^{-6} mol/l), sufficient accuracy and selectivity. The validation parameters of new methods are not inferior to the standard methods, and their quantification limits and selectivity prevail over the existing titrimetric techniques; also the new methods are more rapid and cost-effective than chromatographic ones. Methods for the polarographic determination of lidocaine and mepivacaine in injection solutions using the derivatization by Oxone were validated according to the State Pharmacopoeia of Ukraine.

Key words: local anaesthetics, N-oxide, voltammetry, polarography, derivatization, electrochemical reduction, electrochemical oxidation.